



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102620959 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 16

(21) 申请号 201210048043. 8

(22) 申请日 2003. 12. 23

(30) 优先权数据

60/436569 2002. 12. 26 US

(62) 分案原申请数据

200380109999. 3 2003. 12. 23

(73) 专利权人 梅索磅秤技术有限公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 E·N·格拉泽尔 J·K·莱兰

M·A·比拉多 J·M·莱吉努斯

B·杰弗里-库克 J·D·德巴德

K·A·法尔尼卡 S·亚姆布纳坦

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 薛峰 杨楷

(51) Int. Cl.

G01N 1/28(2006. 01)

G01N 27/30(2006. 01)

G01N 27/416(2006. 01)

G01N 27/02(2006. 01)

G01N 27/327(2006. 01)

G01N 21/66(2006. 01)

G01N 21/76(2006. 01)

C12M 1/34(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 95/04280 A1, 1995. 02. 09,

US 4803998, 1989. 02. 14,

US 5425921 A, 1995. 06. 20,

CN 2393493 Y, 2000. 08. 30,

审查员 陈紫容

权利要求书3页 说明书58页 附图41页

(54) 发明名称

检定盒及其使用方法

(57) 摘要

将最好为检定盒的检定模块描述为读出器设备,其可用于控制模块操作的方面。模块最好包括具有集成的电极的检测腔室,其可用于进行电极感应发光测量。描述了在这些电极和其他表面上以可控制方式固定检定试剂的方法。同时描述了检定模块和盒,其具有检测腔室,最好具有集成的电极,以及其他射流部件,其可包括试样腔室、废料腔室、导管、出口、气泡捕集器、试剂腔室、干燥试剂丸区域等。在某些优选实施例中,这些模块适合于容纳和分析涂抹器棒上所收集的试样。

1. 一种检定盒,其包括
用来容纳提取试剂的提取试剂腔室;
适合于接收涂抹器棒的试样腔室,所述试样腔室通过提取试剂导管连接到所述提取试剂腔室,所述试样腔室具有带有可密封的闭合物的试样引入端口;
通过第一试样导管连接所述试样腔室的第一检测腔室。
2. 根据权利要求 1 所述的检定盒,进一步包括所述试样腔室和所述试样导管之间的过滤器。
3. 根据权利要求 1 所述的检定盒,其中:所述试样腔室是所述盒内的细长空腔,所述试样引入端口位于细长空腔的一端。
4. 根据权利要求 3 所述的检定盒,其中:所述试样和提取试剂导管连接到所述空腔,并且沿所述空腔的长度布置。
5. 根据权利要求 3 所述的检定盒,其中涂抹器棒包括杆,并且其中:
具有第一细长区域和第二细长区域的所述细长空腔,所述区域相对于彼此以一个角度定位,以及
选定所述角度,以便在所述涂抹器棒插入所述试样腔室时,弯曲所述杆,并且促进所述杆的折断。
6. 根据权利要求 5 所述的检定盒,其中:所述折断产生缩短的涂抹器棒片段,其包括所述涂抹器棒的试样收集头,所述片段的长度小于所述细长空腔的长度。
7. 根据权利要求 1 所述的检定盒,进一步包括
用于容纳冲洗试剂的冲洗试剂腔室,所述冲洗试剂腔室通过冲洗导管连接到所述检测腔室,以及
通过废料导管连接到所述试样导管的废料腔室。
8. 根据权利要求 1 所述的检定盒,进一步包括
通过废料导管连接到所述检测腔室的废料腔室,以及
用于容纳冲洗试剂的冲洗试剂腔室,所述冲洗试剂腔室通过冲洗导管连接到所述试样导管。
9. 根据权利要求 1 所述的检定盒,其中:所述提取试剂腔室包括亚硝酸或硝酸盐。
10. 根据权利要求 1 所述的检定盒,进一步包括连接到所述试样导管的气泡捕集器。
11. 一种制备用于分析的试样的方法,其包括
将用于收集试样的涂抹器棒插入包含试样腔室的盒内,所述涂抹器棒包含杆和试样收集头;
将所述涂抹器棒的杆折断成杆部分和头部分;
在所述试样腔室内密封所述头部分,
其中所述试样腔室具有细长空腔,其具有第一细长区域和第二细长区域,所述区域相对于彼此以一个角度定位,以及
所述插入步骤包括:将所述试样收集头通过所述第一细长区域推入所述第二细长区域,以便弯曲所述杆,并且导致其折断。
12. 根据权利要求 11 所述的方法,其中:所述插入步骤和折断步骤同时发生。
13. 根据权利要求 11 所述的方法,其中:所述插入步骤先于所述折断步骤发生。

14. 根据权利要求 11 所述的方法,其中 :所述折断步骤包括施加垂直于杆的力。
15. 根据权利要求 14 所述的方法,其中 :所述试样腔室进一步包括集中力元件。
16. 根据权利要求 11 所述的方法,其中 :所述涂抹器棒为药签。
17. 根据权利要求 11 所述的方法,其中 :所述涂抹器棒在位于所述杆上的预定弱点处折断。
18. 根据权利要求 17 所述的方法,其中 :当所述涂抹器棒完全插入时,所述弱点位于所述第一细长区域之间和第二细长区域之间。
19. 根据权利要求 12 所述的方法,
其中 :所述盒进一步包括
包含提取试剂的提取试剂腔室,所述提取试剂腔室通过提取试剂腔室导管连接到所述试样腔室,以及
通过试样导管连接到所述试样腔室的检测腔室,
所述方法进一步包括
将所述提取试剂通过所述试样腔室,以便形成试样液体,并且
将所述试样液体引入所述检测腔室。
20. 根据权利要求 19 所述的方法,其中 :所述试样导管包括过滤器。
21. 根据权利要求 19 所述的方法,
其中 :所述盒进一步包括
连接到所述试样腔室的气泡捕集腔室,
所述方法进一步包括
在将所述试样液体引入所述检测腔室之前,将所述试样液体引入所述气泡捕集腔室,
并且去除所述试样液体中的气泡。
22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中 :
所述气泡捕集腔室通过气泡捕集导管连接到所述试样腔室,气泡捕集导管连接到所述试样导管,所述气泡捕集导管在所述气泡捕集腔室底部或其附近连接到所述气泡捕集腔室上,以及
去除气泡的步骤包括 :将所述试样液体保持在所述气泡捕集腔室内足够时间,从而允许所述试样液体内的气泡上升到所述试样液体顶部,以及通过所述气泡捕集腔室导管,从所述气泡捕集腔室中移走所述试样液体已减少气泡的部分。
23. 根据权利要求 21 所述的方法,其中 :
所述气泡捕集腔室置于所述试样导管和所述检测腔室之间,并且具有连接到所述试样导管的入口和连接到所述检测腔室的出口,所述出口布置在所述气泡捕集腔室底部或其附近,以及
去除气泡的步骤包括 :将所述试样液体保持在所述气泡捕集腔室中足够长的时间,从而允许所述试样液体内的气泡上升到所述试样液体顶部,以及通过所述气泡捕集腔室导管,从所述气泡捕集腔室中移走所述试样液体已减少气泡的部分。
24. 一种检定系统,其包括根据权利要求 1-10 中任一项所述的盒,以及适合于使用所述盒来进行检定的盒读出器。
25. 一种成套工具,其包括根据权利要求 1-10 中任一项所述的盒以及涂抹器棒。

26. 根据权利要求 25 所述的成套工具,其中 :所述盒包括试样腔室,而所述涂抹器棒过长而不能密封在所述试样腔室内,并且其中 :所述涂抹器棒具有弱点,构造该弱点,以允许所述涂抹器棒在所述弱点处裂开,从而形成头部分,其可以密封在所述试样腔室内。

检定盒及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为 2003 年 12 月 23 日、申请号为 200380109999.3 且发明名称为“检定盒及其使用方法”的专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请参照

[0003] 本申请要求 2002 年 12 月 26 日提交的美国临时申请 No. 60/436,569 的优先权,其披露的内容在此引入作为参考。

技术领域

[0004] 本申请涉及用于对试样进行化学、生物化学和 / 或生物检定的设备、系统、成套工具和方法。这些设备包括用于进行这些检定的检定盒和盒读出器。本申请同时描述了检定时使用的电极阵列、预备和使用这些电极阵列的方法以及包括这些阵列的诊断装置。这些电极阵列可以与本发明的盒和设备结合在一起。

背景技术

[0005] 在中心临床实验室中,传统上使用大型临床分析仪来实现临床测量,这些分析仪能以批量模式处理大量试样。这些实验室配备有经过专门训练的人员,他们能够维护和运行这些复杂的分析仪。存在一种增长的需要:将临床测量从中心实验室移到“看护地”,例如急诊室、医院病床边、医生办公室及家等等。与等待数小时或数天才能从临床实验室收到实验结果相反,看护地测量允许看护人员或病人根据诊断信息迅速作出决定。发展看护地诊断系统的难点在于:使这些系统足够小并且易于使用,以便没有经验的操作人员在非中心临床环境中能够使用这些系统,但同时保持低成本、丰富的检定清单、和 / 或在中心实验室传统临床分析仪上进行的检验的高性能。

发明内容

[0006] 本发明部分地涉及检定模块,尤其涉及检定盒。本发明的检定模块包括一个或多个射流部件,例如隔室、容器、腔室、射流导管、流体端口 / 出口、阀门等等,并且 / 或包括一个或多个检测部件,例如电极、电极触点、传感器(例如电化学传感器、流体传感器、质量传感器、光学传感器、电容传感器、阻抗传感器、光波导管等等)、检测窗口(例如,所构造的窗口允许对盒内的试样进行光学测量,例如吸收率、光散射、光折射、光反射、荧光、磷光、化学发光、电致化学发光的测量等)等。模块也可以包括用于进行检定的试剂,例如结合试剂、可检测标记、试样处理试剂、洗液、缓冲剂等等。试剂可以是液体形式、固体形式和 / 或固定在盒内的固相支撑的表面上。在本发明的某些实施例中,模块包括进行检定所必需的所有部件。在另一些实施例中,本发明也包括适合于容纳此模块并且在模块上进行某些操作的模块读出器,这些操作如控制流体移动、供给功率、进行盒上的物理测量等等。

[0007] 本发明同时部分地涉及执行多个检定的方法,其中使用多个电极来测量依赖于检定的信号。优选的是,使用电极中的至少一个作为工作电极来测量依赖于检定的信号,随后,其作为反电极来测量不同电极上的不同的依赖于检定的信号。在一个优选实施例中,使

用电极中的至少两个来作为工作电极,并且随后作为反电极。尤其最好的是,此方法使用至少一个专用反电极、一个专用工作电极以及两个或多个附加电极,这些电极中的每一个用作测量依赖于检定的信号的工作电极,并且随后作为反电极来测量不同电极上不同的依赖于检定的信号。

[0008] 在另一个优选实施例中,披露了使用多个电极执行多个生化检定的方法。此方法包括以下步骤:在第一和第二电极之间施加电能、在第二电极处测量依赖于检定的信号、在第二电极和第三电极之间施加电能、并在第三电极处测量依赖于检定的信号。测量的依赖于检定的信号最好选自电流、电势和/或电极诱导的发光。第二和第三电极的每一个可具有固定在其上的检定试剂。此外,每一个电极可具有固定在其上的不同检定试剂,其中每一个检定试剂对于所关心的不同分析物来说是特定的。

[0009] 在一个实施例中,多个电极可布置在贯流分析池内。在一个优选实施例中,贯流分析池可具有贯流分析池路径,可以沿该路径布置电极。可以沿该路径顺序地布置电极。此外,可以布置电极,以使得第一电极靠近第二电极,而第二电极靠近第三电极。电极可布置在单个检测腔室中。此外,电极可包括印刷碳墨。此外,在由电极上的电介质层限定的检定范畴内,可以将检定试剂固定在电极表面上。

[0010] 在另一个实施例中,电极可以具有用于给电极提供电能的电导线。电导线可以包括暴露的表面,该表面至少部分地限定与贯流分析池流体连通的入口导管。此方法随后可以包括进一步的步骤:在电导线的暴露表面之间施加入口导管询问电势,以确定入口导管内流体的存在或成分。询问电势在量级上最好不足以引起电致化学发光。

[0011] 根据本发明的另一个方面,披露了执行多个生化检定的设备。此设备可以包括多个电极,这些电极包括至少一个专用工作电极、至少一个双重职能电极以及至少一个专用反电极。专用工作电极和双重职能电极最好在其上沉积检定试剂。有利地构造双重职能电极,从而首先作为工作电极操作,并且随后作为反电极操作。检定试剂最好是结合试剂,其对于所关心的不同分析物是特定的,而对于专用的工作电极和双重职能电极的每一个来说也可以是不同的。

[0012] 此外,多个电极可以沿贯流分析池路径布置在贯流分析池内。专用的反电极最好靠近双重职能电极,而双重职能电极最好靠近专用工作电极。此外,多个电极最好布置在单个检测腔室中。多个电极可以包括印刷碳墨。在由电介质层限定的检定范畴内,专用工作电极和双重职能电极可具有固定在其上的检定试剂。

[0013] 专用工作电极、双重职能电极和专用反电极最好具有相应电导线,用于给电极提供电能。优选的是,至少两个非邻近电导线具有位于其上的暴露表面。电导线的这些暴露表面最好至少部分地限定与贯流分析池流体连通的入口导管,以便入口导管内具有的流体与暴露表面电接触。在这样的优选实施例中,可以构造暴露表面,从而在暴露表面之间施加入口导管询问电势,以确定入口导管内流体的存在或成分。此外,最好构造设备,使得在暴露表面之间施加的询问电势在量级上不足以在相应电极上引起电致化学发光。

[0014] 在另一个实施例中,设备可以构造为具有光学检测器,用于检测在专用工作和双重职能电极上产生的发光。作为另一种选择,设备可以包括电压表,用于测量专用工作和双重职能电极上的电势。在另一个可替代实施例中,设备可以包括电流表,用于测量所述专用工作和双重职能电极上的电流。电极最好包含于一次性的检定盒内,而光学检测器、电压表

和 / 或电流表位于分开的可重复使用的盒读出器内。

[0015] 根据本发明的另一个方面,用于进行多个检定的盒可以包括具有入口、出口和检测腔室的贯流分析池。检测腔室最好包括多个位于一维阵列内的电极,其中至少第一电极具有固定在其上的第一检定试剂。根据某些优选实施例,电极可以包括碳墨。电极最好具有多个电导线,其为电极提供电能。此外,盒可以包括邻近第一电极布置的第二电极,第二电极最好具有固定在其上的第二检定试剂。

[0016] 根据一个实施例,盒最好具有检测腔室,该腔室至少具有一个检测腔室表面。检测腔室表面的至少一部分最好是透明的。此外,盒可以包括光学检测器,其适合合并布置用于检测来自检测腔室的发光。最好在分开的盒读出器内提供光学检测器。

[0017] 根据本发明的另一个方面,披露了用于进行电致化学发光测量的方法,其中测定在两个电极之间的阻抗,并且在两个电极中的一个上引起电致化学发光。在测量腔室内的两个电极之间测量阻抗,从而检测气泡的存在。最好使用不足以在电极上产生电致化学发光的电能来进行阻抗测量步骤。此外,可以使用 DC 阻抗测量或最好使用 AC 阻抗测量来进行阻抗测量。

[0018] 根据本发明的另一个方面,披露了将检定试剂沉积到电极表面上的方法,电极表面最好包括碳墨,从而形成检定范畴。该方法包括这些步骤:用冲击驱动流体扩散在电极表面上分配预定量的检定试剂,从而涂覆在电极表面上具有预定的检定试剂区域的预定区域。所述检定试剂的预定量最好以大于 200 厘米 / 秒 (cm/s) 的速率分配。预定检定试剂区域最好大于电极表面上预定量的检定试剂的稳态扩散区域。预定检定试剂区域更优选至少是电极表面上检定试剂的预定量的稳态扩散区域的两倍。此方法最好使用流体分配器,其使用流体微分配器,例如微吸液管、微注射器、电磁阀分配器、压力驱动分配器、喷墨打印机、气泡喷印打印机等。同时,检定试剂最好基本不含有表面活性剂。

[0019] 根据一个实施例,电极表面最好包括这样的材料,即,该材料具有用于检定试剂的不同的前进和退却接触角(水溶液具有的接触角最好接近于水的接触角)。此差别更优选至少是 10 度。电极表面不需等离子处理。此外,最好由这样的电介质材料来限定预定区域,该电介质材料具有用于检定试剂的电介质前进和退却接触角。电介质退却接触角最好大于电极表面退却接触角。更优选的是,电介质前进和退却接触角彼此大约相等,但大于电极表面退却接触角(最好大于 10 度)。更优选的是,电介质前进和退却接触角彼此在大约 20 度内。同时,最好选定预定量,使得在电介质材料上扩散的任意检定试剂退却到电介质材料和限定预定区域的电极表面之间的界面。

[0020] 本发明的另一个方面涉及吸附碳墨电极上的检定试剂的方法。此方法可以包括以下步骤:冲洗电极,以及随后用包含检定试剂的溶液处理电极。冲洗步骤最好使用包含表面活性剂的冲洗溶液;如选自已知商标为 Brij、Triton、Tween、Thesit、Lubrol、Genapol、Pluronic(如 F108)、Tetronic、Tergitol 和 Span、更优选为 Triton X100 的表面活性剂的非离子表面活性剂。此外,在冲洗步骤之后、在处理步骤之前,可以用不含表面活性剂的溶液清洗电极。最好将电极在不含表面活性剂的溶液内浸泡大约一个小时。

[0021] 根据本发明的另一个方面,披露了形成检定范畴的方法,检定范畴包括检定试剂。优选的是,根据这样的方法,用抗生物素蛋白溶液处理表面预定区域,使得在表面预定区域内形成吸附了抗生物素蛋白的层。接下来,最好用包含检定试剂的溶液来处理吸附了抗生

物素蛋白的层, 检定试剂与生物素连接。在用检定试剂溶液处理前, 更优选在表面上干燥抗生物素蛋白溶液。此方法也可以使用以下步骤: 在用检定试剂溶液处理前, 冲洗吸附了抗生物素蛋白的层。表面可以是碳墨电极。预定区域最好由分界线所限定, 该分界线适合将抗生物素蛋白和 / 或检定试剂溶液限制于预定区域内 (两种溶液最优选均限于预定区域内)。可以由电介质层来形成分界线。

[0022] 根据本发明的另一个方面, 披露了形成多个检定范畴的方法, 其中用抗生物素蛋白溶液来处理多个表面预定区域中的一个, 以便在表面预定区域内形成吸附了抗生物素蛋白的层。随后最好用包含连接到生物素的检定试剂的溶液来处理吸附了抗生物素蛋白的层。随后对于多个检定范畴的每一个可以重复这些步骤。在用检定试剂溶液处理前, 更优选在表面上干燥抗生物素蛋白溶液。此方法也可以使用以下步骤: 在用检定试剂溶液处理前, 冲洗吸附了抗生物素蛋白的层。表面可以是碳墨电极。预定区域最好由分界线所限定, 该分界线适合将抗生物素蛋白和 / 或检定试剂溶液限制于预定区域内 (两种溶液最优选均限于预定区域内)。可以由电介质层来限定分界线。

[0023] 在每一个范围内的检定试剂可以是相同的, 也可以是不同的。可以使用的检定试剂包括但不限于: 抗体、抗体片段、蛋白质、酶、酶底物、抑制剂、辅助因素、抗原、半抗原、脂蛋白、脂糖类、细胞、亚细胞成分、细胞受体、细胞膜片段、病毒、核酸、抗原、脂质、糖蛋白、碳水化合物、缩氨酸、氨基酸、荷尔蒙、蛋白质结合配体、药理试剂、膜囊、脂质体、细胞器官、细菌或其组合物。检定试剂最好是结合试剂, 结合试剂能够特定地结合到所关心的分析物上, 或作为另一种选择, 结合试剂能够与所关心的分析物竞争, 以结合到所关心的分析物的结合配偶体上。尤其优选的检定试剂是抗体和核酸。

[0024] 根据一个实施例, 形成一个或多个检定范畴的抗生物素蛋白溶液可以包括抗生物素蛋白的聚合形式。可以通过形成抗生物素蛋白和交联分子的溶液来形成抗生物素蛋白的聚合形式, 交联分子最好具有多个生物素群。交联分子和抗生物素蛋白的比率最好在 0.01 和 0.25 之间。形成检定范畴的方法最好能包括冲洗检定范畴或多个检定范畴的步骤。冲洗溶液更优选包括阻断剂, 其中阻断剂可以是蛋白质或生物素。

[0025] 本发明同时涉及使用电极阵列的检定盒、和 / 或使用上述这些电极的结合区域 (并且适合于实现上述用于使用这些阵列和范围的方法), 以及涉及用于操作和分析这些盒的检定盒读出器。本发明也涉及包括这些盒和盒读出器的检定系统。这些盒和读出器最好包括必要的射流以及控制系统, 用于移动试样和试剂流体、收集废流体、去除和 / 或引入液体试剂和 / 或试样的气泡、进行试样上的物理测量和 / 或提取试样。

[0026] 本发明同时涉及检定盒, 其包括最好具有可密封的闭合物的试样腔室、可选废料腔室和检测腔室 (检测腔室最好具有一个或多个结合范围, 其具有固定的结合试剂, 更优选的是, 具有在一个或多个电极上的一个或多个结合范围, 最优选的是以上描述的本发明的电极阵列)。检测腔室通过试样导管连接到试样腔室上, 并且如果存在废料腔室的话, 通过废料导管连接到废料腔室上。检定盒也可以包括连接到试样腔室的试样腔室通气口, 和 / 或连接到废料腔室的废料腔室通气口。试样可包括毛细管突变, 最好是 z 转换。z 转换最好包括液体导管部分, 其连接盒的两个平坦射流网。作为另一种选择, 毛细管突变可包括双 z 转换。

[0027] 在检定盒的另一个实施例中包括: 具有引入端口和可密封闭合物的通气式试样

腔室 ;通气式废料腔室 ;以及分别通过试样和废料导管连接到试样和废料腔室的检测腔室 (检测腔室最好具有一个或多个结合范围, 结合范围具有固定的结合试剂, 更优选具有在一个或多个电极上的一个或多个结合范围, 最优选为以上描述的本发明的电极阵列), 在盒主体内, 可以通过一个或多个与盒主体侧匹配的覆盖层限定一个或多个射流网。第二覆盖层或覆盖层的组可以与盒主体的第二侧匹配, 从而在其间形成一个或多个额外的第二侧射流网, 第一和第二侧射流网通过在盒主体内的至少一个通孔实现射流连通。通过盒主体内的凹口和 / 或覆盖层, 至少部分地限定了射流网。此外, 通过位于盒主体和至少一个覆盖层之间的衬垫层内的孔眼, 可以至少部分限定射流网中的至少一个。

[0028] 此外, 在包括 z 转换毛细管突变的实施例中, z 转换可以连续包括第一、第二、第三、第四和第五试样导管部分, 部分的每一个以一个角度连接到邻近部分上, 并且确定部分的方向, 使得第一和第五部分位于第一射流网内, 第三部分位于第二射流网内而第二和第四部分为盒主体通孔。

[0029] 此外, 检定盒可以包括试样导管内的干燥试剂。干燥试剂可以包括如标示结合试剂、阻断剂、ECL 共反应物和 / 或提取缓冲中和试剂。在另一个实施例中, 检定盒可以包括连接到试样导管的空气通气口。在另一个实施例中, 检定盒可以包括通气试剂腔室和试剂腔室导管, 该试剂腔室导管将试剂腔室与试样导管连接起来。试剂腔室可以包括液体试剂, 其可以可选择性地包含在试剂腔室中的试剂安瓿内。试剂腔室导管也可以连接到空气通气口上。

[0030] 试剂导管可以包括干燥试剂 ;干燥试剂可以包括如标示结合试剂、阻断剂、ECL 共反应物和 / 或提取缓冲中和试剂。液体试剂可以是例如洗涤缓冲剂、提取缓冲剂、检定稀释液和 / 或 ECL 读出缓冲剂。提取缓冲剂最好是亚硝酸或硝酸盐。

[0031] 在另一个实施例中, 检定盒可以进一步包括容纳第二液体试剂的第二试剂腔室, 连接到第二试剂腔室的第二试剂腔室通气口以及将第二试剂腔室与试样导管连接起来的第二试剂腔室导管。

[0032] 本发明盒内的检测腔室最好包括以上描述的结合试剂阵列。此外, 检测腔室可以包括一个或多个电极, 该电极具有以上所描述的固定在其上的结合试剂。

[0033] 在其他实施例中, 检定盒可以进一步包括第二废料腔室、连接到第二废料腔室的第二废料腔室通气口、通过第二试样导管连接到试样腔室或第一试样导管并且通过第二废料导管连接到第二废料腔室的第二检测腔室。此外, 检测腔室一个壁的至少一部分可以充分透明, 从而允许检测腔室内材料的视觉监控。检定盒也可以包括第二检测腔室, 其通过第二试样导管连接到试样腔室或第一试样导管上并且通过第二废料导管连接到第一废料腔室上。类似的, 其中覆盖层之一的至少一部分可以充分透明, 从而允许所述盒内流体流动的监控。

[0034] 在其他实施例中, 覆盖层可具有第一区域和第二区域, 第一区域包括固定的结合试剂的形成图案的阵列, 其限定了检测腔室的表面, 而第二区域上具有干燥试剂, 其限定了试样导管的表面。盒也可以具有两个第二侧覆盖层, 其限定了两个第二侧射流网和第一侧跨接覆盖层, 其连接两个第二侧射流网。在某些实施例中, 干燥试剂可以位于第一侧跨接覆盖层上。

[0035] 在另一个实施例中, 用于分析由包括杆和试样收集头的涂抹器棒收集的试样的检

定盒,可以包括具有细长空腔的试样腔室,伸长空腔具有第一细长区域和第二细长区域,区域相对于彼此以一定角度定向,使得在涂抹器棒插入试样腔室时弯曲杆,并且促进杆的断裂。角度最好在 30 和 70 度之间。同样,在一些实施例中,空腔的截面区域小于涂抹器棒头宽度的 2 倍。断裂最好产生变短的棒断片,其包括试样收集头,其中断片长度小于空腔长度。盒也可以包括在空腔内用变短的棒断片进行密封试样隔室的可密封的闭合物。

[0036] 检定盒的其他实施例可以包括容纳提取试剂的提取试剂腔室,具有试样引入端口的试样腔室,端口具有可密封的闭合物,其中试样腔室适合接收涂抹器棒,以及包括通过第一试样导管连接到试样腔室的第一检测腔室(检测腔室最好具有一个或多个结合范围,其具有固定的结合试剂,更优选是在一个或多个电极上的一个或多个结合范围,最优选是以上所描述的本发明的电极阵列)。试样腔室通过提取试剂腔室导管连接到提取试剂腔室上。在试样腔室和试样导管之间可以选择性地包括过滤器。试样和提取试剂导管可以连接到空腔上并且沿空腔长度布置。提取试剂最好包括亚硝酸或硝酸盐。

[0037] 检定盒的另一个实施例包括用于容纳冲洗试剂的冲洗试剂腔室以及检测腔室(检测腔室最好具有一个或多个结合范围,范围具有固定的结合试剂,更优选是在一个或多个电极上的一个或多个结合范围,最优选为以上所描述的本发明的电极阵列),其中冲洗试剂腔室和废料腔室分别通过冲洗导管和废料导管连接到检测腔室上。作为另一种选择,废料腔室可以通过废料导管连接到检测腔室上,而冲洗试剂腔室通过冲洗导管连接到试样导管上。

[0038] 根据本发明的另一个方面,披露了实现基于盒的检定方法。该方法通常包括:从试样腔室中移动试样到第一试样导管分支中。在试样中重新构成干燥试剂,而将具有预定体积的试样柱移到检测腔室中,并且随后移到废料腔室内。试剂随后移到检测腔室内,并且测量信号。

[0039] 将试样移入试样导管内的步骤可以包括:打开试样通气口,并且将真空施加到第一废料腔室通气口内。通过打开空气通气口并且将真空施加到第一废料腔室通气口内,可以将试样柱移动到检测腔室内。通过打开试剂通气口并且将真空施加到第一废料腔室通气口内,可以实现移动试剂。或者,移动试剂也可以包括打开空气通气口,以分割试剂部分。

[0040] 检定可以是结合检定,其中检测腔室包括一个或多个固定的结合试剂,而第一干燥试剂包括一个或多个标示结合试剂。信号可以是电致化学发光信号,其中检测腔室进一步包括电极,一个或多个标示结合试剂可以包括一个或多个电致化学发光标记,而第一试剂可以包括电致化学发光共反应物。

[0041] 在某些实施例中,通过在干燥试剂上来回移动试样,可以重新构成干燥试剂。此外,试样柱可以在检测腔室内来回移动。通过打开空气或试样腔室通气口并且在废料腔室通气口上交替施加正负压力,可以实现来回移动流体。

[0042] 通过在预定时间段内移动试样和/或试剂,可以实现流体移动的选择性控制。作为另一种选择,一些实施例可以移动试样和/或试剂,直到试样和/或试剂到达预定位置。此外,某些实施例可以使用流体传感器确定何时试样和/或试剂到达预定位置。通过在检测腔室内来回移动柱,可以在检测腔室内混合试样柱。在某些实施例中,试样导管和/或试剂导管可以包括 z 转换,其起毛细管突变的作用。

[0043] 此方法也可以包括:通过试样引入端口将试样加到试样腔室内,并密封试样引入

端口。本发明包括一些实施例,其中试样是液体试样和 / 或试样包含固体基体。也可以利用此方法,其中试样腔室通过包含提取试剂的提取腔室连接到试样腔室出口上。

[0044] 在另一个实施例中,可以在具有第二通气废料腔室和第二检测腔室的盒上实现基于盒的检定方法,其中第二检测腔室通过包含第二干燥试剂的第二试样导管分支连接到试样腔室上,并且通过第二废料导管连接到第二废料腔室上。此方法进一步包括:将试样从试样腔室移到第二试样导管分支中,重新构成试样中的第二干燥试剂,将具有预定体积的试样的第二柱移到第二检测腔室中,将第二检测腔室内的第二柱移到第二废料腔室内,将试剂移到第二检测腔室内并且测量来自第二检测腔室的信号。试剂导管也可以包括第三干燥试剂。其他实施例可以使用包含第二试剂的第二试剂腔室,其中第二试剂腔室通过第二试剂导管连接到试样导管或第一试剂导管上,并且将第二试剂移到检测腔室内。

[0045] 实现基于盒的检定的方法的其他实施例可以包括以下步骤:将试样从试样腔室中移到第一试样导管内,重新构成试样内的第一干燥试剂,将试样柱移到第一检测腔室内,将第一检测腔室内的试样移到废料腔室中,将试剂移到检测腔室内并且测量来自检测腔室的信号。这样的方法可以利用具有检测腔室的盒,该检测腔室具有细长尺寸,其中沿细长尺寸在大致相对的检测端面上,试样和试剂导管连接到检测腔室上。此外,可以实现此方法,使得试样柱沿一路径在向前的方向移动通过检测腔室,而试剂沿此路径反向移动通过检测腔室。

[0046] 在另一个实施例中,可以在具有第二废料和检测腔室的盒上实现此方法,其中第二检测腔室通过第二试剂腔室导管连接到第一检测腔室导管上,而通过第二废料导管连接到第二废料腔室上。此方法可以包括以下步骤:将试剂移到第二检测腔室内,并且测量来自第二检测腔室的信号。

[0047] 根据本发明的另一个方面,用于准备分析试样的方法可以包括以下步骤:插入涂抹器棒,其具有杆和试样收集头,用于将试样收集到具有试样腔室的盒内,将涂抹器棒的杆断成杆部分和头部分,并且在试样腔室内密封头部分。插入步骤可以与折断步骤同时发生,或可以在折断步骤前发生。可以通过施加垂直于杆的力来实现折断步骤。或者,试样腔室可以包括集中力的元件。

[0048] 在其他实施例中,用于准备分析试样的方法中所使用的检定盒可具有试样腔室,该试样腔室具有细长的空腔,细长空腔包括第一细长区域和第二细长区域,其中两个区域以相对于彼此的一个角度定位。使用这样的检定盒的方法的插入步骤可以包括:推动试样收集头通过第一区域并且进入第二区域,从而导致杆弯曲并折断。在某些实施例中,涂抹器棒在位于杆上的预定弱点上折断。当涂抹器棒完全插入时,弱点最好位于第一和第二区域之间。

[0049] 在另一个实施例中,用于准备分析试样的方法可以包括:提取试剂通过具有头部分的试样腔室,从而形成试样液体,并且随后将试样液体引入检测腔室内。此外,连接到试样腔室的试样导管可以包括过滤器。更进一步,盒可以具有连接到试样腔室的气泡捕集腔室,并且此方法可以进一步包括以下步骤:将试样液体引入气泡捕集器内,并且在将试样液体引入检测腔室前从试样液体中去除气泡。

[0050] 在某些实施例中,气泡捕集腔室可以通过气泡捕集导管连接到检测腔室上,该气泡捕集导管连接到试样导管上,其中在或接近气泡捕集腔室底部处,气泡捕集导管连接到

气泡捕集腔室上。在这样的实施例中,去除气泡的步骤可以包括:将试样液体在气泡捕集器内保持足够长的时间,以便允许样品液体中可能存在的任何气泡浮到样品液体的顶部,以允许试样液体的气泡减少部分随后通过气泡捕集腔室导管而从气泡捕集腔室中去除。作为另一种选择,可以在试样导管和检测腔室之间插入气泡捕集腔室,并且可以具有连接到试样导管的入口和连接到检测腔室的出口,其中在或接近气泡捕集腔室底部处布置出口。在这样的可替代实施例中,去除气泡的步骤可以包括:将试样液体在气泡捕集器内保持足够长的时间,以便允许样品液体中可能存在的任何气泡浮到样品液体的顶部,以允许样品液体的气泡减少部分通过气泡捕集腔室导管而从气泡捕集腔室中去除。

[0051] 根据本发明的另一个方面,检定系统可以包括根据本发明的任意实施例的检定盒以及适合使用盒来实现检定的盒读出器。

[0052] 此外,披露了成套工具,其可以包括根据本发明的任意实施例的检定盒以及涂抹器棒。这种成套工具的涂抹器棒可以具有预定的弱点。

[0053] 本发明也涉及适合控制和实现使用上述盒的测量的盒读出器,包括以上描述的盒和盒读出器的系统,和包括盒以及一个或多个试剂和/或用于使用盒实现的检定的涂抹器棒的成套工具。

附图说明

[0054] 图 1a 描述了基于盒的检定模块的简化图示表示。

[0055] 图 1b 描述了检定盒的一个实施例,检定盒具有两个检测腔室和可单独寻址电极的两个排。

[0056] 图 1c 说明了电极阵列的一个实施例的分解装配。

[0057] 图 2 是具有匹配电导线电阻的电极阵列的图示表示。

[0058] 图 3a-3e 说明了与成对启动模式一起使用的电极阵列的各种构造。

[0059] 图 3f-3g 说明了使用单个共同反电极的电极阵列的两个可能构造。

[0060] 图 4 描述了检定盒的一个实施例中的图 3a 的电极阵列。

[0061] 图 5 是从电极阵列发出的电致化学发光图像,其中电极中的一个在电极表面上具有空气气泡。

[0062] 图 6a 和 6b 是来自电极阵列的电致化学发光图像,电极阵列不曾处理过(图 6a)或用表面活性剂预先冲洗过(图 6b)。

[0063] 图 7a 说明了具有同心管的局部冲洗设备的使用。

[0064] 图 7b 是在图 7a 中描述的局部冲洗设备的截面视图。

[0065] 图 8 描绘了碳墨和电介质墨表面上流体下落的接触角作为分配速率的函数。

[0066] 图 9 是说明不同射流部件的检定盒的一个实施例的示意表示。

[0067] 图 10 描述了根据图 9 的示意表示的射流网。

[0068] 图 11a-11c 分别为图 9 的检定盒的顶视图、底视图和等轴图;图 11a 说明了形成在盒一个侧上的射流网,图 11b 说明了形成在盒另一个侧上的射流网,图 11c 提供了具有虚线的等轴图,以说明如在盒主体内所见的整个盒射流网。

[0069] 图 12 为图 9 的检定盒的底视图,说明了用于检测/监控流体运动的射流检测器的一个优选设计。

- [0070] 图 13a 为分解的装配图,说明了图 9 中描述的检定盒的分层装配。
- [0071] 图 13b 为图 13a 中描述的衬垫和电极阵列覆盖层的详图。
- [0072] 图 14a 是说明了各种射流部件的检定盒的另一个实施例的示意表示。
- [0073] 图 14b 为分解装配图,说明了 14a 中描述的两件检定盒的分层装配。
- [0074] 图 14c 为图 14b 中描述的衬垫和电极阵列覆盖层的详图。
- [0075] 图 15a 为图 14b 中描述的检定盒的上部盒部件的顶视图。
- [0076] 图 16a 和 16b 分别为图 14b 中描述的检定盒的下部盒部件的顶视图和底视图。
- [0077] 图 17 是图 14b 的检定盒的底视图,说明了用于检测 / 监控流体运动的射流检测器的一个优选设计。
- [0078] 图 18a 和 18b 分别为根据图 14a 的示意表示描述的射流网的等轴顶视图和底视图。
- [0079] 图 19 为图 14b 中描述的检定盒的上部盒部件的底视图,说明了整体式过滤器的一个实施例。
- [0080] 图 20 为说明了过滤器插入物的可替代检定盒实施例的等轴底视图。
- [0081] 图 21 为图 14b 中描述的检定盒的等轴图,具有插入其中的检定试剂安瓿,说明了检定试剂释放机构的一个实施例。
- [0082] 图 22 说明了混入检定试剂泡罩包装装配和集成的检定试剂释放(刺穿)机构的一个实施例。
- [0083] 图 24 说明了图 14a 中描述的检定盒的一个优选阀门构造。
- [0084] 图 25 是图 14a 中显示的示意表示,描述了射流部件的布置和流体检测器的位置。
- [0085] 图 26a 到 26c 说明了操作图 25 中描述的检定盒的一个优选方式。
- [0086] 图 27 为试样腔室的截面视图,其在腔室本身内具有完整的通气口。
- [0087] 图 28 为试样腔室的一个实施例的截面视图,该试样腔室用于从固体或包含固体的基体吸取分析物。
- [0088] 图 29 为试样腔室的一个可替代实施例的截面视图,该试样腔室用于从固体或包含固体的基体吸取分析物,基体包括集中力元件。
- [0089] 图 30 为试样腔室的另一个实施例的截面视图,该试样腔室用于从固体或包含固体的基体吸取分析物,基体包括两个区域或混合物的试样腔室。
- [0090] 图 31 为截面视图,其描述了气泡捕集腔室的一个实施例。
- [0091] 图 32 为检定盒另一个实施例的示意表示,说明了各种射流部件。
- [0092] 图 33 为分解装配图,说明了根据图 32 中描述的示意图的两件提取检定盒的分层装配。
- [0093] 图 34 描述了盒读出器的一个优选设计的剖视分解图。

具体实施方式

[0094] 从以下某些优选实施例的详述中将可以更全面地理解本发明以及其其他目标、特性和优势。在此在使用术语“测量”或“测量法”的地方,应理解这些术语包括定量的和定性的测量,并且包括出于多种目的而进行测量,这些目的包括但不限于:检测物体或属性的存在、测量物体或属性的数量、和 / 或识别试样内的物体或特性。

[0095] 本发明包括设备、电极、电极阵列、系统、系统部件、成套工具、试剂和对试样进行一个或多个检定的方法。本发明包括检定模块（如检定盒、检定板等），其具有一个或多个检定单元（如容器、隔室、腔室、导管、贯流分析池等），其可包括一个或多个检定范畴（如检定单元表面的离散位置，在其中发生检定反应和 / 或在其中引发依赖于检定的信号，例如电化学或最好为电极诱发的发光信号），用以实现多个检定测量。

[0096] 在某些优选实施例中，在检定电极（最好为检定电极阵列，最优选为检定电极的一维阵列）上支撑检定范畴，以便允许基于电化学发光或电极诱发的发光测量的检定的实行。可以选择性地通过沉积到电极上的电介质层来限定检定范畴。检定模块最好具有一个或多个特征，该特征能够使其适于用在“看护地”临床测量上，如小尺寸、低成本、易处理、多元检测、易于使用等。本发明的方法和设备允许实现这些优势，而同时保持在中心临床实验室典型使用的传统成批处理仪器的性能。

[0097] 检定模块可以包括必要的电子部件和 / 或主动的机械部件，用于实现检定测量，如一个或多个电能源、电流表、电位计、光检测器、温度监控器或控制器、泵、阀门等。部分或全部电子和 / 或主动机械部件最好位于单独的检定模块读出器内。读出器也具有与检定模块的合适的电、射流和 / 或光学连接，用于实现检定模块上的检定。使用这样的布置，检定模块可以被设计成低成本和一次性的，而读出器（其载有更昂贵和复杂的部件）是可重复使用的。使用检定模块和检定读出器的优选检定过程包括：将盒插入读出器内，制造适当的与盒的电、射流和 / 或光学连接（在盒和读出器上使用电、射流和 / 或光学连接器），以及进行盒内的检定。最好在将盒插入读出器前，将试样引入盒内。检定也可以包括将一个或多个检定试剂加到盒上；一个或多个检定试剂最好以干燥和 / 或湿润的形式存贮在盒内。

[0098] 本发明也包括准备检定模块的方法，其包括准备电极阵列和在这些电极阵列上形成检定范畴的方法。本发明也包括冲洗检定范畴的方法，从而去除非结合试剂，而不让这些试剂影响检定模块内的其他表面。

[0099] 本发明的一个优选实施例包括检定盒，其包含一个或多个检定贯流分析池。检定贯流分析池包括腔室，该腔室具有流体入口和流体出口以及入口和出口之间的流动路径。在腔室内表面上形成电极的阵列。当用于电极诱发的发光检定时，相对电极阵列的内部腔室表面最好是透光的，以便检测到在电极上产生的光。一个或多个电极包括固定在电极上的检定试剂。使用这些检定范畴来实现检定反应，通过使用电极来检测这些检定反应，从而引发依赖于检定的信号，例如电化学或更优选是电极诱发的发光信号，并且检测此信号。这些检定试剂最好位于一个或多个检定范畴内，通过沉积在电极上的电介质层内的孔眼限定了这些检定范畴。流体入口可以选择性地包括流体入口管路，其具有用于检测流体入口管路内的流体存在的传感器。

[0100] 最好沿流体路径以一维阵列来形成检定盒内的电极。阵列和 / 或流体路径最好处于线性布置，虽然也可以使用其他形状（如弓形、曲线、锯齿形等）。在这样的构造中，这是有利的：选定电极的有源区域和流动路径的纵横比，从而确保在电极上的检定范畴有效采样流经贯流分析池的流体内的分析物。沿流动方向的流动路径长度最优选大于垂直于流动方向的宽度，电极的有源区域最优选占据流动路径宽度的较大部分（最好大于 60%，更优选大于 80%），和 / 或电极上方的流动路径的高度比起流动路径的宽度要小。令人惊异的是，已经发现：通过重新使用作为工作电极（例如具有结合范围的工作电极，该范围用于电

极诱发的发光检定)的电极,可以大大减小贯流分析池内专用反电极的表面区域,而不影响检定性能,这些电极被作为反电极来重新使用,用于测量来自于另一个、最好是邻近的工作电极的依赖于检定的信号。在一个特别优选的实施例中,沿贯流分析池路径以成对方式激活电极,在一维电极阵列内的内部电极被用作工作电极,来产生依赖于检定的信号,并且随后作为反电极,用于在邻近电极上产生依赖于检定的信号。

[0101] 本发明的检定盒可以包括多个贯流分析池或检测腔室。在某些优选实施例中,贯流分析池可以包括相同的检定范畴或至少具有至少一些检定范畴,这些区域共有所关心的相同分析物的特征。在这些实施例中,可以使用多个贯流分析池来分析多个不同试样或比较已经以不同方式进行预先处理的试样。作为另一种选择,贯流分析池之一可以是控制贯流分析池,用来分析控制试样,而贯流分析池的另一个可以是测试贯流分析池,用来分析测试试样。控制试样可以是完全预先限定的控制试样或可以是包括测试试样但用添加的所关心的分析物掺加的混合物,以便允许由标准加入方法来进行检定校正。在可替代的实施例中,检定盒具有至少两个贯流分析池,贯流分析池具有两个不同检定板的检定范畴。有利的是,可以使用这样的盒来单独实现彼此不相容的检定反应。

[0102] 图 1a 描述了根据本发明的一个实施例的基于盒的生化检测系统 100 的简化示意图。系统外壳即盒读出器 105,最好包括光学检测器 110 并且使其适应和构造其接收和定位盒 115 和 / 或用于处理的光学检测器 110。系统最好包含支撑子系统(图中未示),其可以包括一个或多个以下子系统:用于存贮检定试剂 / 消费品和 / 或废料的存贮子系统;用于处理试样的试样获取 / 预处理 / 存贮的子系统;用于处理试剂、试样、废物等以及用于通过流体入口管路 125 将流体提供给检测腔室 120 的射流处理子系统;用于与盒的电触点 130 进行电接触以及将电能提供给电极 135、136、137 的电力子系统;以及用于控制和协调系统和子系统操作以及获得、处理和存贮光学检测信号的控制子系统。

[0103] 如所说明的,一个优选实施例将使用电极阵列,该电极阵列最好具有至少一个专用反电极 135,一个双重职能电极 136 以及一个专用工作电极 137。这样的优选构造将使用成对启动模式(在下面详细讨论),其中双重职能电极可以重新使用。图 1b 更详细地描述了基于盒的装置 150 的检测部分的一个可能实施例。如所描述的,两个检测腔室 155、156 的每一个包括一排共九个可单独寻址的电极 157、158。存在两个流体输入管路 160、161,用于将试样、试剂和 / 或冲洗溶液引入检测腔室以及两排电触点 165、166,电触点具有相应于电极 157、158 的电导线 170、171。同时在此优选实施例中描述的是两排阻抗传感器 172、173,其可用于流体检测(例如试样、试剂、洗涤剂、缓冲剂等等)和 / 或流体区别(例如区别试样、试剂、洗涤剂、缓冲剂等,和 / 或区别如全血、血浆、黏液等试样类型)。

[0104] 图 1c 为一个优选实施例的装配示意图,说明了包括电极阵列 176 的盒部件 178 的装配。根据一个实施例,将电极阵列 176(最好由碳墨构成)应用到形成电极 180、电导线 181 和电触点 182 部分的基底层 175 上。电介质层 177 最好应用在电极层上方,从而限定检定范畴 190 和阻抗传感器 191。作为另一种选择,可以在基底相对面上印刷出电触点 182,并且通过穿过基底的导电通孔将电触点连接到电极 180 或电导线 181 上。以下详细讨论施加碳和电介质层以及各种可替代材料的方法。

[0105] 盒部件 178 最好与第二盒部件匹配。第二盒部件具有位于匹配表面上的通道或孔眼,以便当与盒部件 178 匹配时,其起到在电极阵列上形成检测腔室的作用(例如,如图 1b

中的检测腔室 155 和 156 以及图 1a 中的检测腔室 120 所说明的)。第二盒部件最好在匹配表面上具有通道,当与部件 178 匹配时,其在电极上形成贯流分析池(贯流分析池具有一个通过部件 178 限定的表面,和由第二部件限定的相对表面和容器)。通道也可以用来形成其他射流路径,例如通向贯流分析池的射流入口和出口管路。例如,可以将这些通道注模或切成第二部件。作为另一种选择,可以通过在部件 178 和第二盒部件之间应用的衬垫材料(最好为双面胶带),限定贯流分析池或其他射流路径的壁。作为另一种选择,第二部件在匹配表面内具有孔眼,当与部件 178 匹配时,其形成容器。

[0106] 在本发明的一个优选实施例中,检定盒具有最少的或没有主动机械或电子部件。当实现检定时,可以将这样的检定盒引入盒读出器内,由盒读出器提供这些功能。例如,读出器可具有将电能应用到检定电极并且测量检定电极处形成的电势或电流的电子电路。读出器可以具有一个或多个光检测器,用于测量在检定电极上产生的发光。可以使用的光检测器包括但不限于:光电倍增管、雪崩光电二极管、光电二极管、光电二极管阵列、CCD 芯片、CMOS 芯片、膜。光检测器可以包括在光学检测系统内,该光学检测系统同时包括透镜、滤波器、快门、光圈、光纤、光导等。读出器也可以具有泵、阀门、加热器、传感器等,用于给盒提供流体、核实流体的存在和/或将流体保持在适当的控制温度下。可以使用读出器来储存和提供检定试剂,可以是在读出器本身上,或可以是来自单独的检定试剂瓶或检定试剂存储装置。读出器也可以具有盒处理系统,例如用于将盒移入和移出读出器的运动控制器。读出器可以具有微处理器,用于控制机械和/或电子子系统、分析采集的数据和/或提供图形用户界面(GUI)。盒读出器也可以包括用于连接盒的电子、机械和/或光学连接器。

[0107] 本发明的一个方面涉及采用电极的检定模块、在这些电极上固定检定试剂,以及其在检定中的使用,检定最好为电极诱发的发光检定。2002 年 6 月 28 日提交的共同未决的美国专利申请 No. 10/185,274,在此作为参考引入,其提供了许多电极和电介质材料的例子、电极图案和形成图案的技术及固定技术,其适合用于电极诱发的发光检定以及适合与本发明检定模块一起使用。本发明中的电极最好包括传导材料。电极可以包括例如金、银、铂、镍、钢、铌、铜、铝、导电合金等的金属。它们也可以包括涂覆氧化物金属(例如涂覆氧化铝的铝)。电极可以包括非金属导体,例如分子碳的传导形式。电极也可以包括半导体材料(例如硅、锗)或半导体膜,例如氧化铟锡(ITO)、氧化铟锡(ATO)等等。电极也可以包括混合材料,这些材料包含导电合成物、墨、胶、共混聚合物、金属/非金属合成物等。这样的混合物可以包括与非导体材料混合的导体或半导体材料。电极材料最好基本不含基于硅的材料。

[0108] 用于本发明检定模块的电极(尤其工作电极)有利地能从发光物质中感应发光。用于工作电极的优选材料是能够从存在第三烷基胺(例如三丙胺)的钌-三-二吡啶中感应电致化学发光的材料。这样的优选材料的实例包括铂、金、ITO、碳、碳聚合体合成物以及导电聚合体。

[0109] 电极最好包括基于碳的材料,例如碳、碳黑、石墨碳、碳纳米管、碳原纤维、石墨、碳纤维以及其混合物。有利地,它们可以包括导电碳聚合体合成物、分散在基体内的导电微粒(例如碳墨、碳膏、金属墨),以及/或导电聚合体。本发明的一个优选实施例是检定模块,最好是检定盒,其具有电极(例如工作电极和/或反电极),其包括碳、最好是碳层、更优选是用丝网印刷术印刷的碳墨层。一些有用的碳墨包括由 Acheson Colloids 公司生产

的材料（例如，Acheson 440B、423ss、PF407A、PF407C、PM-003A、30D071、435A、Electrodag 505SS 以及 Aquadag™），E. I. Du Pont de Nemours 公司（例如，Dupont7105、7101、7102、7103、7144、7082、7861D、E10073562B 和 CB050），高级的导电材料（例如，PTF20），Gwen 电子材料（例如，C2000802D2）和导电化合物公司（例如，C-100）以及 Ercon 公司（例如，G-451，G-449 和 150401）。

[0110] 在另一个优选实施例中，本发明的电极包括碳原纤维。术语“碳原纤维”、“碳纳米管”、单壁纳米管 (SWNT)、多壁纳米管 (MWNT)、“石墨纳米管”、“石墨原纤维”、“碳管”、“原纤维”以及“巴基管 (buckeytube)”，所有这些术语可以用来描述一大类碳材料（参看 Dresselhaus, MS. ;Dresselhaus, G. ;Eklund, P. C. 的“Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes”，Academic Press, San Diego, CA., 1996, 及其引用的参考）。贯穿此申请所使用的术语“原纤维”和“碳原纤维”包括这大类基于碳的材料。如在美国专利第 4,663,230 ;5,165,909 以及 5,171,560 中披露的单个碳原纤维是尤为有利的。它们可以具有从大约 3.5nm 到 70nm 范围的直径，以及大于直径的 10^2 倍的长度，多重基本连续的规则碳原子层的外部区域，和明显的内核区域。仅出于说明的目的，碳原纤维的典型直径可以在大约 7 和 25nm 之间，而长度的典型范围可以是 1000nm 到 10,000nm。碳原纤维也可以具有单层碳原子和范围在 1nm-2nm 的直径。本发明的电极可以包括一个或多个碳原纤维，例如以原纤维底板、原纤维集合体、原纤维墨、原纤维合成物（例如包括分散在油、胶、陶瓷、聚合物等内的原纤维的导电合成物）的形式。

[0111] 通过模制过程（即在电极的制作期间），通过组成图案的沉积，通过组成图案的印刷、通过选定的蚀刻，利用如冲切或激光打孔的切割过程，和 / 或通过电子微型制造领域中已知的技术，电极可以形成图案。电极可以自身支撑，或支撑于另一个材料上，例如支撑于薄膜、塑料片、胶膜、纸张、衬背、网眼、毡制品、纤维材料、凝胶体、固体（例如，金属、陶瓷、玻璃）、弹性体、液体、带子、粘合剂、其他电极、电介质材料等上。此支撑件或基底可以是刚性的或柔性的，扁平或变形的、透明的、半透明的、不透明或反射的。此支撑件最好包括塑料平板，例如醋酸盐或聚苯乙烯。通过现有技术中已知的不同涂覆和沉积过程，例如涂抹、喷涂、丝网印刷、喷墨打印、激光打印、旋涂、蒸涂、化学气相沉积法等，可以将电极材料施加到支撑件上。可以使用光刻技术（例如在电子微型制造中的规定技术），通过选定的蚀刻和 / 或通过选定的沉积（例如，通过经由掩模实现的蒸发或 CVD 过程），可以使支撑的电极形成图案。在一个优选实施例中，电极包括导电碳 / 聚合物合成物的挤出膜。在另一个优选实施例中，电极包括在基底上沉积的丝网印刷的导电墨。电极可以通过另一个导电材料支撑。在一些应用中，在导电金属墨（例如，银墨）层上印刷出丝网印刷的碳墨电极，以便改善电极的导电性。有利的是，在检定盒内，最小化设计允许使用具有短印刷的电极导线的电极（最好小于 1.5cm，更优选小于 1.0cm），这在长度上较类似。通过保持导线短小，使得使用丝网印刷的碳电极而不使用下部的例如银层这样的导电金属层成为可能。

[0112] 根据本发明的一个优选实施例，通过电介质表面界定电极表面（最好是检定模块或检定板的工作电极表面），电介质表面提升或降低（最好是提升）和 / 或具有与电极表面不同疏水性（最好比起电极表面更疏水）。相对于电极表面，电介质边界最好高出 0.5-100 微米，或高出 2-30 微米更优选，或高出 8-12 微米为最优选。更优选的是，电介质边界具有急剧限定的边缘（即在电极和电介质边界之间的界面上提供陡峭的边界壁和 / 或锐角）。

[0113] 第一电极表面最好具有水的前进接触角,其比起电介质表面小 10 度,最好小 15 度,更优选小 20 度,更优选小 30 度,小 40 度甚至更优选,最优选的是小 50 度。具有比起电极表面来提升和 / 或更疏水的电介质表面的一个优势是:在试剂沉积过程中,电介质边界可以用来将试剂限制在电极表面边界内。尤其是,具有急剧限定的边缘,其在电极和电介质边界之间的界面上带有陡峭的边界壁和 / 或锐角,这对于“销住”溶液滴和将其限制在电极表面是非常有用的。在本发明的特别优选实施例中,通过在电极上和 / 或围绕电极印刷带图案的电介质墨,来形成电介质边界,设计图案以暴露电极上的一个或多个检定范畴。

[0114] 可以通过化学或机械处理来改进电极,从而改善试剂的固定。可以对表面进行处理,从而引入试剂固定的官能团或加强其吸附性。也可以使用表面处理来影响电极表面特性,例如,水在电极表面上的散布或电极表面处的电化学反应的动力特性。可以使用的技术包括暴露于电磁辐射、电离辐射、等离子体或化学试剂,例如氧化剂、亲电子试剂、亲核试剂、还原剂、强酸、强碱和 / 或其组合。通过增加粗糙度从而增加电极的表面积,蚀刻一个或多个电极部件的处理是尤其有益的。在聚合基体或结合剂内具有导电微粒或纤维(例如,碳微粒或原纤维)的合成电极的实例中,可以使用聚合体的选定蚀刻来暴露导电微粒或纤维。

[0115] 一个尤其有用的实施例是:通过利用等离子体的处理,尤其是低温等离子体,也称为辉光放电,来改进电极,更广泛地说,改进本发明包含的材料。进行这种处理,以便改变电极的表面特性,电极在处理期间与等离子体接触。比如,等离子体处理可以改变电极的物理特性、化学成分或表面化学特性。例如,这些改变有助于试剂的固定、减少污染物,改善与其他材料的粘合性,改变表面的可湿性,易于材料沉积,产生图案,和 / 或改善均匀性。有用的等离子体实例包括氧、氮、氩、氦、氢、碳氟化合物、水和其组合。对于暴露碳-聚合体合成材料的碳微粒来说,氧等离子体是尤其优选的。也可以使用氧等离子体将羧酸或其他氧化碳功能引入碳或有机材料中(例如,其可以作为活性酯或酰氯被激活),以便允许试剂联合。类似地,可以使用含氮的等离子体引入氨基团,用于与检定试剂的联合。

[0116] 电极表面处理是有利的,以便改善或便于固定,改变电极的润湿性,增加表面区域,增加试剂固定的结合能力(例如脂质、蛋白或脂质 / 蛋白层)或分析物的结合性,和 / 或改变电极上的电化学反应的动力学。然而,在一些应用中,使用没有处理过的电极是优选的。例如,我们发现,当应用需要大的动态范围以及因此需要高的每单位面积电极的结合能力时,在固定之前蚀刻碳墨电极是有利的。我们发现,氧化蚀刻(例如,通过氧等离子体)具有额外优势,因为氧化三丙胺(TPA)的电势以及水的接触角,均相对于未蚀刻的墨有所减少。通过在少量含水缓冲剂中施加试剂并且允许少量在电极表面上均匀扩散,水的低接触角允许试剂在电极上被吸附。令人惊讶的是,我们发现:尽管墨中存在聚合体结合剂,也可以在未蚀刻的碳墨电极上实现极好的检定。事实上,在一些需要高灵敏度或低-非特定结合的应用中,使用未蚀刻的碳墨电极是优选的,以便将暴露的碳表面区域最小化,因此将背景信号以及将试剂非特定结合到暴露的碳中的试剂损失最小化。根据使用的墨和用于施加墨的过程,电极表面可能不容易由水溶液润湿。我们发现,我们能在试剂吸附期间,通过将低浓度非离子清洁剂加到试剂溶液中来补偿电极的低可湿性,以便易于溶液在电极表面上的扩散。均匀扩散在试剂从少量溶液的局部固定期间是尤其重要的。例如,我们发现,添加 0.005-0.04%的**TritonX-100®**允许蛋白质溶液在未蚀刻的碳墨表面上扩散,而不影

响电极吸附蛋白质,并且不破坏施加在电极或邻近电极的电介质薄膜(最好为印刷电介质薄膜,其厚度为0.5-100微米,或更优选为2-30微米,或最优选为8-12微米,并且具有急剧限定的边缘)将流体限制在电极表面的能力。有利的是,当使用例如**TritonX-100®**的非离子清洁剂,从而便于在未蚀刻的丝网印刷的电极(即,以便允许试剂固定)上扩散试剂(例如捕获试剂)时,允许含试剂的溶液在电极表面上干燥。已经发现,此干燥步骤大大改善了固定过程的功效和重复性。

[0117] 由于电极表面污染物的不同水平,在碳墨电极尤其是未蚀刻的碳墨电极上的试剂固定的功效可能有一些可变性。当使用某些电介质墨在电极上形成检定范畴时,此影响尤其明显。我们发现,通过预先冲洗电极表面,最好用表面活性剂溶液冲洗,我们能改善固定功效并且降低可变性。

[0118] 通过由测量触点直径来定量评估电极的表面润湿性,可以观察到某些电介质墨产生的碳墨电极的污染,其中触点直接越大,润湿性越好。表1中描述了具有不同电介质层的三个可替换碳表面的对比。如表1中数据所显示的,冲洗电极表面能够明显增加接触451电介质的碳表面的润湿性(触点直径)(大概通过去除与印刷451电介质相关的电极表面的污染,例如通过将电介质墨的成分移动到电极表面上)。

<u>表面</u>	<u>触点直径, 英寸</u>
未预处理:	
具有451电介质的碳	0.0366
具有Nazdar电介质的碳	0.0461
[0119] 具有PD039A电介质的碳	0.0457
经预处理:	
具有451电介质的碳	0.0438
具有Nazdar电介质的碳	0.0463
具有PD039A电介质的碳	0.0448

[0120] 表1. 三种不同电介质材料在碳电极表面上的触点直径的对比(平均50nL水滴直径,400 μ s的打开时间)。

[0121] 在一个实施例中,可以使用一种净化碳电极表面的方法,其中电极表面在0.5%的**Triton X-100**的水溶液中浸泡几个小时,随后用去离子水冲洗,然后在去离子水中浸泡大约一个小时,最后进行干燥。**Triton**溶液有利地从表面上除去污染物,而去离子水去除吸附的表面活性剂。此净化方法是有效的清洁过程,其增加了碳和电介质墨上的退却接触角之间的不同。

[0122] 图6显示了净化过程的结果。尤其是,图6描述了碳墨电极上的ECL标记的ECL图像,电介质膜限定了电极的暴露区域。图6a是未经净化的ECL图像,而图6b是根据本实施例用**Triton X-100**净化后的ECL图像。这些ECL图像显示出处理过程大大降低了电极表面上的ECL强度的变化,可能是由表面污染物的斑点导致的未处理电极上的ECL的斑点。

[0123] 可以用化学官能团派生出电极,这些官能团可用于将其他材料附着其上。材料可以共价地附着这些官能团上,或可以非共价地吸附到派生或非派生电极上。可以用共价地

附着到其表面上的化学官能团来制备电极。这些化学官能团包括但不限于： COOH ， OH ， NH_2 ，活性羧基（例如，N-羟基琥珀酰亚胺（NHS）-酯）、聚-（乙烯乙二醇）、硫醇、烷基（ $(\text{CH}_2)_n$ ）团，和/或其组合）。可以使用某些化学官能团（例如， COOH ， OH ， NH_2 ， SH ，活性羧基）将试剂联结到电极上。有用的固定和生物结合技术的进一步参考，参见 G. Hermanson, A. Mallia 和 P. Smith 的 *Immobilized Affinity Ligand Techniques*（学术出版社，San Diego, 1992）以及 G. Hermanson 的 *Bioconjugate Techniques*（学术出版社，San Diego, 1996）。

[0124] 在优选实施例中，使用 NHS-酯团来附着其他承载亲核化学官能团（例如胺）的分子或材料。在一个优选实施例中，在生物分子上和/或生物分子内，存在亲核化学官能团，是自然的，和/或由化学衍生的。合适的生物分子实例包括但不限于：氨基酸、蛋白质和其官能片段，抗体、抗体结合片段、酶、核酸以及其组合。这是众多如此可能技术中的一种，通常应用于在此给出的实例和众多其他类似材料和/或生物分子。在一个优选实施例中，可以用于 ECL 的试剂可通过 NHS-酯团附着在电极上。

[0125] 这是理想的：控制材料非特定结合到电极上的程度。仅作为非限制实例，这是理想的：减少或防止非特定的蛋白质、抗体、抗体片段、细胞、亚细胞微粒、病毒、血清和/或其成分中的一个或多个、ECL 标记（例如， $\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_3$ 和 $\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bpy})_3$ 派生物）、草酸盐、三烷基胺、抗原、分析物，和/或其组合的吸附。在另一个实例中，提高生物分子的结合是理想的。

[0126] 在电极内、电极上或接近电极处，可以存在一种或多种减少或防止非特定结合的化学部分（称为阻断基团）。这样的部分，例如 PEG 部分和/或带电残余物（例如磷酸盐、铵离子），可以附着或涂在电极上。有用的阻断试剂的实例包括蛋白质（例如血清清蛋白和免疫球蛋白）、核酸、聚环氧乙烷、聚环氧丙烷、聚环氧乙烷和聚环氧丙烷的嵌段共聚物、聚乙烯亚胺和清洁剂或表面活性剂（例如，以 Brij, Triton, Tween, Thesit, Lubrol, Genapol, Pluronic（例如，F108），Tetronic, Tergitol, 和 Span 等商标名字著称的非离子清洁剂/表面活性剂的类别）。

[0127] 用于电极的材料可以用表面活性剂处理，以减少非特定结合。例如，可以用本领域的普通技术人员熟知的表面活性剂和/或清洁剂（例如 Tween, Triton, Pluronic（例如 F108），Span 和 Brij 系列的清洁剂）来处理电极。可以使用 PEG 和/或表现方式类似于 PEG（例如，低聚糖或多糖，其他亲水低聚物或聚合物）（“Polyethylene glycol chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications”，Harris, J. M. Editor, 1992, Plenum Press）的分子的溶液代替表面活性剂和/或清洁剂，和/或连同表面活性剂和/或清洁剂一起使用。可以通过阻断剂，例如通过如牛血清清蛋白（BSA）、干酪素或免疫球蛋白 G（IgG）的蛋白质的竞争非特定吸附性，来阻断例如以上列出的某些实体不合需要的非特定吸附。在电极上可以吸附或共价附着检定试剂，并且随后用阻断剂处理电极，以便在表面上阻断剩余未占据的区域。

[0128] 在优选实施例中，这是理想的：将生物分子或其他检定试剂固定（通过共价或非共价方式）到含碳材料上，例如碳墨、碳黑、原纤维和/或分散在另一个材料内的碳。可以附着抗体、抗体片段、蛋白质、酶、酶底物、抑制剂、辅助因素、抗原、半抗原、脂蛋白、脂糖类、细胞、亚细胞成分、细胞受体、病毒、核酸、抗原、脂质、糖蛋白、碳水化合物、缩氨酸、氨基酸、荷尔蒙、蛋白质结合配体、药理试剂、和/或其组合。附着非生物实体也是理想的，例如但不限于：聚合物、弹性体、凝胶体、涂层、ECL 标记、氧化还原作用活性物质（例如三丙胺、草

酸盐)、无机材料、螯合剂、连接器等。可以共同吸附多个物质,从而在电极表面上形成混合层。最优选的是,生物材料(例如蛋白质)通过被动吸附而固定在含碳电极上。令人惊奇的是,可以在碳上直接吸附生物膜(例如细胞,细胞膜、膜片段、膜囊、脂质体、细胞器官、病毒、细菌等等),而无需破坏膜成分的活性或其对于结合试剂的可到达性(例如,参看共同未决的美国专利申请 No. 10/208,526,标题为“Assay Electrodes Having Immobilized Lipid/Protein Layers, Methods Of Making The Same And Methods Of Using The Same For Luminescence Test Measurements”),2002 年 7 月 29 日提交,在此作为参考)。

[0129] 用于检定模块的电极最好是非多孔的,然而在一些应用中,使用多孔电极是有利的(例如,碳纤维或原纤维的底板、烧结的金属和沉积在滤膜、纸张或其他多孔基底上的金属薄膜)。这些应用包括通过电极使用溶液过滤的应用,以便:i)增加至电极表面的物质输送(例如增加溶液中分子结合到电极表面分子的运动);ii)捕获电极表面上的微粒;和/或iii)从容器去除液体。

[0130] 优选的检定模块可以使用电介质墨、薄膜或其他电绝缘材料(以下称为电介质)。可以使用本发明中的电介质来防止电极间的电连通,限定形成图案的区域,将材料粘附在一起(即作为粘合剂),支撑材料,限定检定范畴,作为掩模,作为标志和/或包含检定试剂和其他流体。电介质是非导电的和有利地为非多孔的(即不允许材料传输),并且在存在电极诱发的发光测量中遇到的介质时,抵抗溶解或退化。本发明中的电介质可以是液体、凝胶体、固体或分散在基体内的材料。他们可以以未固化形式沉积和经固化而变成固体。他们可以是墨、固体膜、胶带或片。用于电介质的材料包括聚合体、光刻胶、塑料、粘合剂、凝胶体、玻璃、非导电墨、非导电膏、陶瓷、纸张、弹性体、硅树脂、热塑性塑料。本发明的电介质材料最好基本不含硅。非导电墨的实例包括UV可固化电介质,例如Acheson Colloids公司生产的材料(例如,Acheson451SS,452SS,PF-455,PD039A,PF-021,ML25251,ML25240,ML25265,以及Electrodag 38DJB16clear),Nazdar(例如,NazdarGS2081 3400SPL)和E. I. du Pont de Nemours and Co.(例如,Dupont:5018,3571,和5017)。

[0131] 根据某些优选实施例,可以用多种方法应用电介质,例如印刷、喷涂、层压,或可以用粘合剂、凝胶体、溶剂或通过使用机械固定器粘结。可以通过模制过程(即在层的制造期间),通过选定的蚀刻,和/或通过例如冲切或激光打孔等的切削过程,来形成电介质层的图案和/或孔眼。电介质可以通过使用已确立的光刻技术(例如用于半导体电子工业中的技术)和/或通过使用蒸发或CVD过程的形成图案的沉积(例如通过掩模的沉积)沉积和/或蚀刻成图案。在一个优选实施例中,通过印刷(例如喷墨打印、激光打印或更优选丝网印刷术),或可选择性的UV固化,电介质墨沉积在基底上。丝网印刷的电极最好是UV可固化的,比起基于溶剂的电介质,其允许改善的边缘限定。在另一个优选实施例中,非导电聚合体膜使用粘合剂固定到支撑件上。

[0132] 当使用将电介质墨印刷到或临近电极,以将流体限定在电极表面区域时,电介质膜最好具有0.5-100微米的厚度,更优选是2-30微米,或最优选是8-12微米,并且同时最好具有带有陡峭壁的急剧限定的边缘。

[0133] 支持基于ECL的检定所需要的各种部件和过程的微型化也能从感应ECL的新颖方法中获益。当感应ECL时,工作电极和反电极最好彼此相对靠近地隔开,从而使溶液内电压降落对ECL信号的强度和空间分布的影响最小。当以相同溶流体积内进行多个ECL测量时,

每一个测量最好使用紧密隔开的工作电极（其中感应出电致化学发光）和反电极（以完成电化学反应）。一个可能的构造是：每一个测量具有其自己的电极对；然而，此构造将需要最大数量的装置体积、空间和电触点数量。一个可替代构造是：每一个测量共有有一个可重复使用的共同的反电极。图 3f 和 3g 说明了使用共同的反电极的可能替代方法。如所见的，该构造的检测腔室（例如检测腔室 341）仍将需要大的空间，以便容纳工作电极（例如工作电极 315）和单个共同的反电极 311。然而，每一对工作电极 - 反电极的相对尺寸和间距将影响到每一对的相对性能。因此，如在图 3f 和 3g 中所描述的，使用单个共同的反电极的构造最好确保每一对工作电极 - 反电极的相对尺寸和间距大体均等。工作电极最好布置在一维阵列中，该阵列最好沿贯流分析池的流动路径布置。共同的反电极最好也与阵列一侧的流动路径对齐，从而与工作电极的每一个保持大体均等的间距。最好没有工作电极位于反电极和不同工作电极之间的最短路径上；反电极和第一工作电极之间施加大电势，在一些条件下可能在介入溶液中产生足够高的电势，从而在位于第一工作电极和反电极之间的最短路径上的第二工作电极上引发 ECL 不合需要的放射。可选择地，接触检测腔室的电极表面区域由沉积在电极层（在电极层上以圆圈所示）上的电介质膜的孔眼所限定。

[0134] 在一个优选实施例中，可以使用电极的成对触发模式，以便尽最大实际的程度来缩小小盒尺寸，并且因此大大减小了所需的容量和空间。此优选的成对触发模式，或电极成对模式，对于第一测量最好使用牺牲的，或专用的反电极，其后则允许再次使用先前触发过的（其中触发描述了施加工作电极电势后的表面的状态，例如足够高的电势在工作电极上产生电致化学发光）工作电极作为下一次测量的反电极。令人惊讶的是，如以下所描述的，可以观察到：在作为反电极使用的电极上具有蛋白质涂层，以及电极作为工作电极已经触发过一次的事实，都不影响那个电极用作反电极的性能，因此允许以双重职能作为工作电极和反电极来使用电极。

[0135] 图 3a-3e 描述了使用成对触发模式的电极阵列的可能的替代构造。图 3a 说明了可用于一个或多个检测腔室（在此用虚线表示了单个检测腔室 340）的单排电极。电极最好位于一维阵列中。可选地，与检测腔室接触的电极表面区域由沉积在电极层上的电介质膜的孔眼（如电极层上的圆周所示）所限定。在一个实施例中，可以构造电极 310 作为专用反电极，可以构造电极 305-309 作为双重职能电极，而电极 315 可以构造为专用工作电极。电极排在通向电极的导线上具有阻抗传感器 325，布置这些电极以接触检测腔室的输入管路或出口管路内的流体。最好由沉积在电极层上的电介质层内的孔眼来限定阻抗传感器。图 3a 的电极阵列利用一种构造，其中电触点和导线位于电极的一侧，以简化与控制单元的匹配。图 3b 描述了替代构造，其中电触点和导线交替位于电极任一侧。这样的交替构造允许阻抗传感器位于电导线的每一个上，以便在流入和留出检测腔室期间询问流体（例如通过布置流体入口管路和流体出口管路，以便其分别在电极的交替侧面接触阻抗传感器）。

[0136] 图 3c-3e 说明了使用多个检测腔室的构造。特别地，图 3c 和 3d 描述了两个使用两排电极的检测腔室。图 3d 说明了一个构造，其中一组触点 / 导线的电极位于相对放置的检测腔室内。这样的构造可以提供额外的好处，例如更密集放置的电极阵列和将阻抗传感器放在每一个导线上的能力。阻抗传感器可以放置于每一个导线上，因为能交替处理每一个检测腔室；即流体首先被导入检测腔室，并且完成所有检定，随后流体被导入另一个检测腔室，以进行其他剩余检定的处理。

[0137] 图 3e 描述了利用了四个检测腔室的实施例。应该注意：虽然图 3e 描述了在每一个检测腔室内使用单个共同的反电极的电极阵列，但该构造也可以使用以上讨论的成对触发模式。

[0138] 在图 3a-3g 中描述的电极阵列最好支撑在支撑件上，例如塑料膜或片。最好通过匹配支撑件和第二盒部件来形成检测腔室，第二盒部件具有限定其上的通道或孔眼（或者，这些特征至少部分地由电极支撑件和第二盒部件之间的衬垫所形成）；参看图 1c 的讨论。

[0139] 由于以前相信，使用成对电极模式可能导致：先前使用的工作电极上的检定影响其作为下一个工作电极的反电极的功能，设计了一个实验，其中使用三种不同蛋白质涂层来确定其效果。测量了三种蛋白质涂层的效果：抗生物素蛋白、CK-MB 捕获抗体、以及牛 IgG。在带有不同反电极（涂层、非涂层、触发的和原始的）的非涂层电极上测量了包含三丙胺的缓冲剂内的 10nM 钨 - 三 - 二吡啶溶液的 ECL；这些结果列于表 2 中。在此表格中 $ECL_{\text{fired CE}}$ 表示来自这样的工作电极的 ECL，该工作电极与之前作为工作电极而触发过的反电极配对，而 $ECL_{\text{virgin CE}}$ 是来自这样的工作电极的 ECL，该工作电极与之前未作为工作电极而触发过的反电极配对。观察到的 ECL 信号均在彼此的试验误差之内显示了未预见到的结果：在表面上存在蛋白质和先前用作工作电极对于作为反电极的表面的性能都没有任何影响。

[0140]

C. E. 上的蛋白质	$ECL_{\text{fired CE}}$	$ECL_{\text{virgin CE}}$
抗-CK-MB	199	207
没有	200	197
抗生物素蛋白	181	205
IgG	203	214

[0141] 表 2. 在没有 TAG ECL 产生中蛋白质涂层和施加氧化电势到先前作为反电极的电极上的效果

[0142] 参考图 4，仅通过实例描述了在单个检测腔室内使用成对触发模式的简化电极阵列的操作。为了此操作实例的目的，将不讨论试样、检定试剂、冲洗溶液和 / 或缓冲剂通过流体输入管路 450 的引入；可以理解：实现检定的每一个必要的要素存在于此实例的检测腔室内。至少电极之一用作专用反电极，例如 401，因此没有任何检定试剂固定在其上。电极 402-407 将具有固定在其上的检定试剂；电极 402-406 将用作双重职能电极，而电极 407 用作专用工作电极。如在图中描绘的，电极最好在检测腔室内沿流动路径布置成一维阵列（最优选是线性阵列）。专用反电极 401 将首先与邻近的双重职能电极 402 一起使用，其中双重职能电极将作为工作电极以在双重职能电极 402 上进行需要的检定。此后，双重职能电极 402 将用作反电极，并且将与双重职能电极 403 一起成对触发，其中双重职能电极 403 将作为工作电极，以在双重职能电极 403 上进行需要的检定。对于剩余的电极，继续此成对触发，直至电极对 406 和 607。最后剩余的一对将双重职能电极 406 用作反电极，而专用工作电极 407 用作工作电极，从而实现专用工作电极 407 上需要的检定。在特定触发中使用

的电极对彼此相互靠近（即在其之间没有其他电极），以避免位于中间空间内的电极不合需要的 ECL 放射。

[0143] 在盒中使用形成图案的电极可能导致某些独特设计和 / 或性能限制。尤其是，使用形成图案的电极导线可能导致与沿导线电压降相关的问题，尤其在象常常要求相对高的电流的电致化学发光的应用里。当使用包含如碳墨的中等导电材料薄层的电极时，此问题常常是最大的。通过使用多层形成图案的电极可以部分地缓和此问题（其中通过印刷在例如银墨的更导电材料上，来增加暴露的如碳墨等的中等导电材料的导电性），虽然此方法产生了额外的制造步骤。作为另一种选择，在具有多重检定电极的系统中，通过使导线保持短小（最好在电极和电触点之间的阻抗小于 500ohm，更优选小于 300ohm，最优选小于 100ohm）可以部分地缓解此问题，从而将电压降最小化，并且通过将导线保持在相同长度来使得电极到电极的电压降保持一致。

[0144] 在包含多重工作电极的检定模块中，电极到电极的跨越电极导线的电压降的可变性最好小于在检定测量期间施加的电势，以便此可变性对于测量的可变性具有最小的影响。在特别优选的实施例中，跨越导线的电压降的可变性小于在检定测量期间施加电势的 20%，更优选小于 10%，或最优选小于 2%。作为另一种选择，可以根据跨越导线的电阻的可变性来描述导线的均匀性，阻抗最好小于 50ohm，更优选小于 10ohm，最优选小于 1ohm。

[0145] 在电极和 / 或触点的布置难于使导线保持均匀长度的场合，可以通过几何匹配每一个电极导线的长 - 宽比率来实现导线电阻的匹配（假定一致的印刷厚度）。此长 - 宽比率以下称为“平方数”。通常，对于使用丝网印刷的碳墨的优选的基于盒的构造来说，电极导线的量级为 4 到 5 平方。市场上买得到的墨通常具有这样的墨电阻，其以单位厚度每平方的电阻（例如，ohm/square/mil）来规定，并且根据选定的墨而大范围变化。在特殊的优选实施例中，使用碳墨，其具有大约为 15ohm/square/mil 的墨电阻。对于使用了 5 平方导线的构造来说，在一个优选实施例中，从跨越导线的端部到端部测量的总电阻通常为 450ohm 的量级。

[0146] 图 2 描述了一个用于产生 ECL 的可寻址电极阵列的优选实施例，其可合并入基于盒的形状因素，该形状因素具有必须的对试样 / 试剂进行混合 / 运送的规定。如所说明的，使用触点 205 和导线 210，从而使可寻址电极阵列内的电极 215 由控制单元（图中未示）所控制，控制单元适合于接触或匹配盒。由于跨越导线 210 的电阻在检定测量期间占全部单元电阻的大部分，最好跨越每一个导线尽可能接近地匹配电阻。如图所示，导线长度根据电极和触点的定位而变化，然而宽度也随之变化，使得导线的长 - 宽比率保持一致，以便提供均匀的导线电阻（图中的宽度没有按比例，为了强调而进行了放大）。

[0147] 为了多重目的而利用电极阵列有益于最小化基于盒的装置尺寸，因为消除了对额外部件的需求。根据本发明的另一个方面，电极阵列也可以有利地用来检测流体的存在、检测捕集的空气的和 / 或识别试样类型。有利的是，可以使用阻抗测量来监控盒常规期间单元的状态。测量可以评估在培育期间和冲洗步骤后电极上或之上是否存在捕集的空气。此外，阻抗测量也可以使用电极阵列来区分进入盒的不同试样类型，例如尿液、唾液、血清、血浆或全血试样之间的不同，并且可进行任何需要的必要调整。

[0148] 利用电极阵列通过进行阻抗测量来监控盒操作的优势是多方面的。特别地，以此方法使用电极阵列提供了非破坏性的测量，因为可以在不影响随后的 ECL 测量下进行施加

低压直流电或优选的交流电波形。同时,由电极阵列实现的阻抗测量比起其他盒操作来说相对迅速。更进一步,通过电极阵列进行的阻抗测量十分精确,并且可以有利地连同其他例如压力、光学等传感器一起使用。

[0149] 在低压下,位于待检测区域内,即读出腔室内的电极,象串联的 RC 电路那样运行。经证实,这对于故障保险机构的发展是一个合适的模型,以确定流体存在,不需要的气泡存在或区别读出腔室内试样样本之间的类型。实际上,已经观察到:捕集的空气既可能驻留在电极表面上,也可能位于溶液本体中。根据本发明,空气相对于电极的位置是很重要的。根据一个实施例,可以利用电阻测量来提供指示器,该指示器对于在本体溶液中以及电极/溶液界面上捕集的空气十分敏感。根据另一个实施例,可以使用电容测量来提供指示器,该指示器主要对于界面上捕集的空气敏感。在另一个可替代实施例中,在 ECL 测量期间,可以使用电化学电流(例如 ECL 期间的 TPA 氧化电流)来检测 ECL 测量期间捕集的空气,然而,此测量将不提供在试样进入期间和培育阶段与捕集空气相关的信息,并且在 ECL 测量之前将不允许进行校正步骤。

[0150] 对于使用电容测量,相关电容是双层电容。因为平行板电容在频率低于大约 1MHz 下是无用的,最好将其忽略。每一个电极具有双层电容。应该注意:双层电容不是真正的电容器,因为它展示的是很小的频率依赖性。有利地是,电容主要受界面变化的影响(例如,由于电极表面上捕集的气泡而引起的电极有效区域内的变化),而不受本体的影响;因此最好使用电容来检测电极/溶液界面上的气泡。电容测量最好使用 10-40,000Hz 频率的交流输入电压,更优选在 20-2000Hz 之间,更优选在 50-400Hz 之间,最优选在 200Hz 左右。除了捕集的空气之外的其他因素,例如印刷电极的误差,可能改变电极的有效区域,并因此改变测量的电容。电容的测量可用来检查这些因素以及气泡,并且如果电容值位于可接受范围之外,可以触发错误标记,或作为另一种选择,允许报告的 ECL 信号的归一化来补偿实际的电极区域。

[0151] 关于使用电阻测量,有关电阻为溶液和导线的电阻。已经观察到:溶液电阻将具有小的频率依赖性。本体溶液的变化(例如,通过干扰流经本体溶液的电流流动的气泡)和在电极/溶液界面的变化(例如,在界面上捕集的空气具有减小有效电极区域并因此增加电阻的影响)会影响电阻。同时可以期望:溶液电阻对于与电极接触的溶液的性质非常敏感,并且也可以用来识别试样。

[0152] 可以使用传统阻抗分析电路对阻抗的电阻性(同相)和电容性(异相)成分同时进行测量,最好使用具有这样一种频率的电压波形,在这种频率下,两种成分对阻抗都有重要影响,和/或最好使用具有多个频率的电压波形,这些频率至少包括一种频率,其中电阻是阻抗的重要成分,并至少包括一种频率,其中电容是阻抗的重要成分。作为另一种选择,电阻和电容成分可以分别测量,最好在将被测量成分的影响最大化的频率下测量。例如,在高频下,表面电容的影响最小,阻抗主要是溶液电阻引起的。在本发明的一个实施例中,通过应用具有大于 2000Hz,更优选在 2000 和 100,000Hz 之间,最优选在大约 20,000Hz 频率的电压波形来测量溶液电阻。

[0153] 试样基体识别是非常重要的,因为生物化学检定可以具有各种步骤或不同后处理要求(例如,血液试样和血浆试样有不同处理方法)。表 3 和 4 列出了通过将低压交流激励施加到试验盒中的电极上对于五种不同基体所得到的电阻和电容数值。电极阵列包括丝网

印刷的碳墨电极,其暴露的表面由碳墨上印刷的形成图案的电介质层所限定。阻抗测量在 25 度下进行,在表中指示的频率下使用 0.010V 有效值的激励电压。对于电容测量,因为这是理想的:使用一种频率,其中跨越电容元件发生所有(或几乎所有)的电压降,所以利用了 200Hz 频率,因为发现这导致大于 95%的电压降发生在跨越双层电容;即溶液损失几乎可忽略。利用串联 RC 模型来计算电阻和电容。

[0154] 如在表 3 和 4 中所见的,不同试样基体之间的电容变化很小,然而,基体间电阻显示出大得多的变化。

[0155]	<u>基体</u>	<u>200Hz 下的电容 uF</u>
	检定缓冲剂	0.023
	盐水	0.021
	血清	0.019
	血浆	0.018
	全血	0.020

[0156] 表 3. 使用电容测量的试样区别(相角 76 到 82 度)。

[0157]	<u>基体</u>	<u>20000Hz 下的电阻 ohm</u>
	检定缓冲剂	2516
	盐水	3722
	血清	3996
	血浆	4158
	全血	7039

[0158] 表 4. 使用电阻测量的试样区别(包括 700ohm 的导线电阻,相角 12 到 16 度)。

[0159] 在某些优选实施例中,在 ECL 感应期间测量的电化学的电流,可以用来检测电极上捕集空气的存在,因为捕集的空气可以导致电化学电流大大降低(例如,ECL 期间的 TPA 氧化电流)。图 5 描述了从电极阵列释放的 ECL 图像。由于电极表面上小气泡的存在,电极之一具有小黑斑 500。即使是这样的小气泡,在 ECL 实验期间导致那个电极上测得的电化学电流内可检测的变化;气泡内存在的电流(178uA)比起其他电极的平均电流(187uA)明显不同(差 5%)。除了捕集空气之外的其他因素,如电极印刷误差,可以改变电极有效区域并因此改变测定的电流。在 ECL 期间的电流测量可用来检查这些因素以及气泡,并且如果电流值位于可接受范围之外,可用来触发错误标记,或作为另一种选择,允许报告的 ECL 信号的归一化来补偿实际的电极区域。

[0160] 以上描述的气泡检测方法也能用于检测流体存在、流体中气泡的存在和/或识别检测贯流分析池外检定盒隔室内的试样种类。例如,检定盒的某些优选实施例包括流体入口管路和/或出口管路,用于从盒贯流分析池引入和导出流体,其中这些入口管路和/或出口管路包括流体检测电极,用于检测流体存在、流体内气泡存在和/或识辨试样。这些流体检测电极可以具有独立的电极导线和触点。为了减少至盒的电触点数量,这些流体检测电极最好包括至检定电极(例如检定盒贯流分析池内的检定电极)的暴露导线表面。在此布置中,这是进一步优选的:在给定流体量(例如,入口管路或出口管路)内暴露的导线不包

括在检定测量中一起触发的两个电极（例如 ECL 测量中使用的用作工作电极、反电极的电极对）的导线。在此方式中，可以确保检定测量不受暴露导线之间的低电阻电流路径的影响。

[0161] 参考图 4 内描述的简化实施例，以下将讨论使用阻抗传感器 425 来检测流体输入管路 450 内的流体存在和 / 或流体区别。阻抗传感器 425 是电极 401-407 和电极触点 420 之间的电极导线上的导电表面区域。导电表面最好通过形成图案的电介质层内的孔眼暴露，电介质层在电极导线上形成图案。当流体进入和通过流体输入管路 450 时（例如通过使用泵、阀门、毛细流动等），阻抗传感器 425 可以通过控制器（图中未示）激活，控制器在传感器对之间施加询问电势，从而检测和 / 或区别流体（询问电势最好比在检定电极上感应 ECL 所需要的那些电势低）。通过连续测量不同传感器对之间的阻抗并且比较其数值，可以确定输入管路内气泡或流体的位置。传感器在交替电极导线上，使得当邻近电极在例如 ECL 测量期间进行触发时，跨越检定电极的电势不会因为传感器之间的电流而短路。

[0162] 根据本发明的另一方面，通过分配包括试剂的溶液到电极阵列的一个或多个适当位置，即捕获表面，电极表面涂覆例如抗体或其他特定结合试剂的检定试剂。最好在表面上收集检定试剂（例如通过形成共价键、非特定吸附或特定结合交互作用），以在电极上形成固定层。在优选实施例中，至指定位置的精确量的输送导致只完全覆盖需要的电极表面和 / 或其需要的部分。用市场上买得到的分配装备，例如市场上买得到的 GioDot 的装备，可实现至指定位置的精确量输送。

[0163] 如果表面上液体的前进接触角很高，通过局部沉积液体（例如检定试剂或包含检定试剂的液体）来获得表面上预限定区域的完全覆盖是难以实现的，因此抑制了液体在表面上的扩散（如在未处理碳墨电极上的不含表面活性剂的水溶液所观察到的）。可以通过用化学方法改进表面从而使其更可湿润，或通过将表面活性剂加到液体中，来加速扩散，然而，在很多情形中，改变表面或液体的物理特性是不理想的。作为另一种选择，我们发现，能够在具有高接触角滞后现象（即，表面上液体前进接触角和退却接触角的差异较大，最好差异大于 10 度，更优选大于 30 度，更优选大于 50 度，最优选大于 70 度）的表面上，例如碳墨电极，通过使用冲击驱动流体扩散，能够实现液体非常好的且很好受控扩散。无需表面改进或使用表面活性剂就能实现这样的结果。流体以高速率（最好大于 200 厘米 / 秒，更优选大于 500 厘米 / 秒，最优选大于 800 厘米 / 秒）沉积到表面上（最好使用流体微小分配器，例如微型吸液管、微小注射器、受电磁阀控制的微小分配器、压电驱动分配器、喷墨打印机、气泡喷射打印机等等），以便将表面上的液体扩散驱动到由分配流体的容量和速率所规定的尺寸上，而不管高的前进接触角。低的退却接触角防止流体一旦扩散后较大缩回。使用冲击驱动扩散技术，用预定液体量涂覆表面区域是可能的，该区域比起此表面上预定量的液体稳态的扩散区域（即当以近于零的速率接触到表面时，具有该体积的滴扩散的区域）要大得多（最好至少是因子 1.2，更优选是至少因子 2，甚至更优选是至少因子 5）。

[0164] 待涂覆的区域最好由物理边界所限定，该边界起障碍物的作用，将沉积流体限制于预定区域内（例如周围突起部分或凹陷部分，由沉积在或印刷在表面上的形成图案的材料形成的边界，和 / 或通过与在如可湿性的物理特性发生变化的周围区域的界面形成的边界）。更优选的是，比起预定区域来，流体在周围区域具有更高的后退接触角（差异最好大于 10 度，更优选大于 30 度，最优选大于 50 度）。更为优选的是，周围区域也展示出液体的

低接触角滞后现象（最好小于 20 度，更优选小于 10 度）。通过使用具有高后退接触角和 / 或低滞后现象的周围区域，沉积速率或扩散速率的不精确度的公差大大改善了。在一个优选沉积方法中，将小量试剂以足够的速率分配到预定区域上，从而跨越预定区域扩散，并且稍微扩散至周围区域上，液体随后脱离周围区域（由于其高后退接触角）缩进，但不会缩进得小于预定区域（因为其低后退接触角）尺寸。在本发明的特殊优选实施例中，预定区域是电极（最好是碳墨电极）的暴露区域，而周围区域由电极上形成图案的电介质墨所提供。

[0165] 图 8 说明了典型的观察到的 250nL 水滴的接触角，使用电磁阀控制的微分配器（Bio-Dot 微分配器，Bio-Dot 公司）将水滴沉积在优选电介质墨和优选碳墨上。该图以当流体离开分配器尖端时流体速率的函数描绘了接触角。在低速率下，观察到的接触角接近表面上水的前进接触角。当速率增加时，冲击驱动扩散导致液体在更大区域上扩散，并且观察到的接触角减少。在高速率下，当其接近表面上液体的后退接触角时，观察到的接触角变得相对独立于速率，后退接触角为液体在表面上所能具有的最低接触角（较低的接触角将导致液滴后退，直到其达到后退接触角）。

[0166] 如以上所描述的，例如抗体或其他特定结合试剂的检定试剂可以通过将包含试剂的溶液沉积（例如通过冲击驱动扩散）到表面的预定位置（例如电极表面，最好是碳墨电极表面），并且允许试剂在表面上固定（例如通过共价键、非特定交互作用和 / 或特定结合交互作用），来形成图案。待涂覆的区域最好由物理边界所限定，该边界起障碍物的作用，将沉积流体限制于预定区域内（例如周围突起部分或凹陷部分，由沉积在或印刷在表面上的形成图案的材料形成的边界，和 / 或通过与在如可湿性的物理特性发生变化的周围区域的界面形成的边界），以便形成流体保留区域。

[0167] 在某些优选实施例中，抗体或其他结合试剂（最好为蛋白质的结合试剂）通过非特定吸附固定在碳墨电极上。在固定过程期间，允许检定试剂溶液在电极上干燥是有利的。固定过程最好进一步包括：利用如蛋白质溶液（例如 BSA 或干酪素溶液）等的阻断剂阻断表面上未涂覆区域，用冲洗溶液冲洗表面（最好为缓冲的溶液，该溶液包含表面活性剂、阻断剂、和 / 或例如糖类的蛋白质稳定剂），和 / 或干燥表面。

[0168] 在本发明的一个优选固定过程中，由于不同检定试剂吸附在例如碳墨电极的表面的能力变化而引起的不精确性，通过利用特定结合交互作用固定而降低了，特定结合交互作用包括第一和第二结合配偶体。这样的固定技术不太可能受表面特性微小变化的影响。作为实例，通过涂覆了抗体结合试剂（第二结合配偶体，例如抗核素抗体、蛋白质 A、蛋白质 G、蛋白质 L 等）的表面的抗体溶液（第一结合配偶体）的形成图案的沉积，可以使抗体形成图案。作为另一种选择，通过涂覆了第二结合配偶体（最好是抗生物素、抗生蛋白链菌素，或更优选是抗生物素蛋白）的表面的检定试剂的形成图案的沉积，可以使由第一结合配偶体（最好是生物素）标记的检定试剂形成图案。更优选的，第二结合配偶体以与检定试剂相同的图案沉积。用类推的方法，此方法适合使用多种已知的第一结合配偶体 - 第二结合配偶体的对的任何一种，包括但不限于：半抗原 - 抗体、核酸 - 补充核酸、受体 - 配位体、金属 - 金属配位体、糖 - 外源凝集素、硼酸 - 二醇等。

[0169] 因此，本发明固定方法的一个实施例包括：形成包含检定试剂的检定范畴，通过以下方法：i) 用包含第二结合配偶体的溶液处理表面预定区域（最好为碳墨电极表面），以便在所述表面的预定区域内形成所述第二结合配偶体（最好是抗生物素蛋白）的吸附捕获层

(或,作为另一种选择,共价键层);(ii)用包含检定试剂的溶液处理预定区域内的捕获层,其中检定试剂连接或包括第一结合配偶体(最好为标记有生物素的检定试剂),其结合了第二结合配偶体。最好使用微分配技术将第二结合配偶体和/或检定试剂在预定区域内形成图案(更优选两者都形成图案)。更优选的是,由适合将小容量的流体限制在预定区域内的边界(最好由在表面上形成图案的电介质层所限定)来限定预定区域。

[0170] 处理步骤可以包括:允许溶液在预定区域干燥。在结合第二结合配偶体和结合检定试剂之间,利用一个或多个冲洗溶液冲洗表面,从而去除多余的未结合的第二结合配偶体是有利的。冲洗溶液最好包括表面活性剂和/或阻断剂。在固定了检定试剂后,利用一个或多个冲洗溶液冲洗表面,从而去除未结合的检定试剂是有利的。冲洗溶液最好包括表面活性剂、阻断剂和/或例如糖类的蛋白质稳定剂。有用的阻断剂包括本领域的标准阻断剂(BSA,干酪素等),而且包括包含第一结合配偶体的阻断剂(例如游离生物素),以便在第二结合试剂的固定层上阻断游离结合区域。冲洗步骤可以使用本发明的冲洗技术,该技术使用了同心管来增加和去除冲洗溶液。为了长期保存,在制备后可以选择性地干燥表面。

[0171] 施加到预定区域的第二结合试剂和检定试剂的量最好等于或小于浸透表面所需要的量。通过选择大体等于浸透表面所需数量的量,将多余未结合试剂的量和未结合区域的量最小化是可能的,这样就避免了冲洗或阻断步骤的需要。在可替代实施例中,检定试剂的量保持在捕获层的可利用结合区域量以下,从而确保由添加的检定试剂量确定结合能力,而不是由固定的第二结合配偶体来确定结合能力(因此减少了第二结合配偶体的效率变化的影响,如吸附效率)。

[0172] 可以应用此方法形成多个检定范畴,该检定范畴包含固定在多个预定区域的检定试剂。在此情形下,对预定区域的每一个简单重复此方法。最好检定范畴的至少两个包括对于所关心的分析物具有不同选择性的检定试剂。当形成多个检定范畴时,用包含第一结合配偶体(但不是检定试剂的分析物特定成分)的阻断剂阻断最终产品是尤其有利的,以便阻断在固定的第二结合配偶体上的多余结合区域;此过程防止了由于一个预定区域上的多余检定试剂通过第一结合配偶体-第二结合配偶体的交互作用扩散和结合到不同检定范畴而引起的检定串扰。例如,在使用了结合抗生物素蛋白和随后的生物素标记的抗体这两个步骤过程以后,表面可以由游离生物素的阻断。作为另一种选择,在使用了结合蛋白质A(或其他Fc结合受体)和随后的对抗所关心的分析物的抗体这两个步骤过程之后,可以通过使用不同抗体或更优选的是抗体的Fc片段来阻断表面。

[0173] 已经观察到,在一些实例中,经过一段时间,例如碳墨的表面上吸附的检定试剂,可以缓慢从表面分离。此分离导致游离检定试剂的存在,此游离检定试剂可以干扰使用吸附检定试剂的检定。通过交联吸附的检定试剂,可以大大减缓此分离,以便固定的物质具有更大的分子量并且与表面具有更多的接触点。因此,在以上所描述的固定方法中,最好交联第二结合配偶体,从而在表面制备和/或存储期间使试剂的分离最小化。可以使用标准化学交联剂,通过共价交联,来实现交联。作为另一种选择,使用特定结合交互作用来实现交联。在本发明的一个优选实施例中,第二结合配偶体是多价的(即对于第一结合配偶体具有多个结合区域),并且通过使其与交联试剂组合来交联第二结合配偶体,交联试剂可以是多价的第一结合配偶体,或可以是包括多个第一结合配偶体的分子。在此实施例中,选择交联试剂的量,以便提供有利的交联量,而无需浸透第二结合配偶体上的所有可用结合区域。

在固定了第二结合配偶体之后,可以形成交联,但最好先于固定在溶液中形成。有利地,我们发现:通过允许第二结合配偶体的多个压缩的单层的固定(例如通过延伸聚合的第二结合配偶体至溶液中),交联过程不仅对于形成更稳定的表面起作用,而且增加了表面上可用结合区域的数量(即表面结合能力)。

[0174] 作为实例,通过添加少量生物素标记的交联试剂(例如,如BSA的蛋白质),该交联试剂的每个蛋白质分子具有多个生物素标记,交联抗生物素蛋白(具有四个生物素结合区域的四结合蛋白质),从而形成聚-抗生物素蛋白。随后固定聚-抗生物素蛋白,并且用作捕获表面,来固定生物素标记的检定试剂,例如使用以上描述的固定方法。选定生物素-蛋白质的量,以允许交联,同时留有足够的可用生物素结合区域,以便可使用固定的聚-抗生物素蛋白来捕获生物素标记的第一结合试剂(例如生物素标记的抗体)。生物素标记的交联试剂的每个分子最好包括至少两个、更优选是至少四个、或更优选至少八个生物素。每摩尔抗生物素蛋白的交联试剂的摩尔当量最好在0.01和4之间,更优选在0.01和1之间,甚至更优选在0.01和0.25之间,甚至更优选在0.05和0.25之间,最优选在0.05和0.10之间。用于固定的抗生物素蛋白浓度最好在50-1000ug/mL之间,更优选在100-800ug/mL之间,最优选为大约400ug/mL。类似的,在这些方法中,可以使用其他多化合价生物素特定受体,例如抗生蛋白链菌素,来替代抗生物素蛋白。

[0175] 进行实验从而验证使用碳墨电极上聚-抗生物素蛋白捕获层和/或本发明两个步骤的固定过程的好处。这些实验使用了丝网印刷碳墨电极,其在塑料基底上形成图案。工作电极具有大约为3mm²的暴露的圆形区域,其通过形成图案的电介质层所限定,在碳墨电极上丝网印刷电介质层。基底也包括至少一个额外的碳墨电极,用作反电极。通过沉积(使用Bio-Dot分配器)少量(200-300nL)包含试剂的溶液(溶液通过电介质层限制在暴露的电极区域)到暴露的电极区域上,以及通过允许溶液在电极上干燥,来固定试剂。通过组合适当量的抗生物素蛋白和生物素-BSA并且培养15分钟,来制备聚-抗生物素蛋白。在固定和/或冲洗步骤之后(如以下所描述的),基底可以与多容器板顶匹配从而形成多容器板的容器底面,或可以使用由双面胶制成的衬垫将其匹配到塑料片上,从而形成检定盒的贯流分析池的底面。通过将缓冲剂添加到多容器板的容器或通过缓冲剂引入贯流分析池内,电极表面与包含三丙胺(MSD检定缓冲剂,MSD)的缓冲溶液接触。通过在工作和反电极之间施加电压来感应ECL(经过3秒的2-5V匀变)。通过使用冷却的CCD相机给基底照相来测量ECL。

[0176] 电极可以涂覆抗生物素蛋白(通过用200nL的75ug/mL的抗生物素蛋白溶液处理),或者可以涂覆聚-抗生物素蛋白(通过用200nL的包含75ug/mL的抗生物素蛋白和3.1ug/mL生物素标记的BSA的溶液处理,并且允许整夜干燥溶液;BSA用4倍多余的生物素-LC-磺基NHS酯标记并且每个BSA的生物素的预期比率为大约2-3)。基底用水冲洗而随后用300nL包含100ug/mL的生物素标记的抗-TSH抗体的溶液处理电极。电极用水冲洗,装配到盒内,将包含20uIU/mL的TSH和12ug/mL用磺基-TAG NHS酯(MSD),一种电化学标记,来标记的抗-TSH的抗体的溶液引入盒内。盒培育8分钟,从而允许发生结合反应,随后通过将MSD检定缓冲剂流过贯流分析池来冲洗基底,并且测量ECL。来自聚-抗生物素蛋白处理过的电极(1652单元)的平均发射的电致化学发光密度大约是来自抗生物素蛋白处理过的电极(602单元)的三倍。无需受理论限制,可以相信:聚-抗生物素蛋白电极上的较

高信号,代表聚-抗生物素蛋白处理过的电极上增加的结合区域数量,和/或从聚-抗生物素蛋白电极上冲洗掉的以及盒其他表面上吸附的(因此与位于电极上的结合区域竞争)抗生物素蛋白数量的减少。

[0177] 在类似实验中,抗 TSH 抗体的直接吸附性(通过用 100ug/mL 的抗-TSH 抗体溶液处理电极)与通过聚-抗生物素蛋白层的固定性相比较(如以上所描述的,除了聚-抗生物素蛋白溶液包含 400ug/mL 的抗生物素蛋白和 25ug/mL 生物素-BSA,以及生物素标记的抗 TSH 的浓度为 100ug/mL)。结果显示:使用通过聚-抗生物素蛋白(2207)固定获得的信号大约为用直接吸附(1264)获得的信号的两倍。此外,发现两个步骤的固定规程提供更准确的结果;当采用两个步骤的方法时,变化系数(CV)降低三倍。

[0178] 聚-抗生物素蛋白层的进一步特征在于:使用标有电化学发光标记的抗生物素蛋白(平均每个蛋白质 0.3 磺基-TAG NHS 标记)。用三种溶液中的一种处理电极:(i)75ug/mL 的抗生物素蛋白,(ii)75ug/mL 抗生物素蛋白和 25ug/mL BSA,或(iii)75ug/mL 抗生物素蛋白和 25ug/mL 生物素 BSA。所有这些溶液包含 0.0035%的 Triton X-100。用水冲洗电极,浸入 MSD 检定缓冲剂中,并且测量 ECL。用聚-抗生物素蛋白(抗生物素蛋白和抗生物素-BSA)的所有成分处理的电极提供了 ECL 信号(150981),该信号大概是仅用抗生物素蛋白(85235)或用未标记 BSA 的抗生物素蛋白(65570)所观察到的信号的两倍,这说明了对于聚-抗生物素蛋白的性能改善来说,交联是需要的。同时观察到:聚-抗生物素蛋白电极比起其他电极来,ECL 强度更均匀地分布在整个电极上。

[0179] 在不同实验中,标记的和固定的抗生物素蛋白或聚-抗生物素蛋白层是 i) 未冲洗,或 ii) 暴露在包含 BSA 的溶液中 2 小时,随后用磷酸盐缓冲的盐水广泛冲洗。在此实验中,抗生物素蛋白浓度是 0.5mg/mL,抗生物素蛋白与生物素-BSA 的比率为 16 : 1,而标记的抗生物素蛋白与未标记的抗生物素蛋白混合(以 1 : 100 的比率)从而减少总的信号。对未经处理的电极和用氧等离子体处理过的电极进行此实验。下面的表格显示了:在广泛冲洗和暴露在含蛋白质溶液之后,聚-抗生物素蛋白的使用大大降低了抗生物素蛋白从表面的损失。

[0180]

	未改进的电极				等离子体处理的电极			
	抗生物素蛋白		聚-抗生物素蛋白		抗生物素蛋白		聚-抗生物素蛋白	
	信号	% 剩下	信号	% 剩下	信号	% 剩下	信号	% 剩下
未冲洗	21,107		26,618		10,871		18,512	
冲洗	9,545	45	18,845	71	3,332	31	14,024	76

[0181] 在将检定试剂固定在用于固相检定的表面上之后(例如,通过将包含检定试剂的溶液应用到表面上,最优选的是,通过这些溶液的形成图案的沉积来形成包含检定试剂的检定范畴的阵列),通过冲洗检定电极从而去除未结合的检定试剂,检定性能经常得到改善。当未结合的检定试剂可能干扰检定时(例如,未结合抗体与表面上的抗体通过竞争捕获分析物而发生干扰),此冲洗步骤尤其重要。最好使用一种过程来实现此冲洗步骤,该过

程将未结合试剂吸附在其他不理想位置的能力最小化。例如,在检定模块的电极的检定范畴上固定抗体之后,冲洗步骤最好将未结合抗体到非电极表面上的吸附减为最小(通过与固定在电极上的抗体竞争结合分析物,吸附在非电极表面上的抗体干扰结合检定)。更重要地,在包括多个针对不同所关心的分析物的检定范畴的阵列类型的测量中,冲洗步骤应将未结合检定试剂从一个检定范畴的扩散以及其在不同检定范畴的吸附性最小化(此过程导致检定交联)。

[0182] 我们发现:通过使用同心管分配/吸引器具来局部冲洗检定范畴,我们能阻止检定试剂在预定位置以外的不合需要的吸附。图 7a 和 7b 描述了一个实施例,其中构造冲洗器具,该器具包括单个同心管结构,通过在每一个检定电极上定位同心管结构,其用于冲洗检定模块中的单个检定范畴或连续冲洗检定模块中的多个检定范畴。然而,应该理解:本发明不限于单个同心管装置,最好使用同心管阵列,最好以与检定范畴相同的图案和间隔布置。最好通过内管 705 分配冲洗流体并且通过外管 710 抽吸。在操作中,当流体从内管过渡到外管时,其最好经过检定范畴表面,冲洗由外管直径所限制的区域内的检定范畴。附图显示了用于冲洗基底 730 上形成图案的碳墨电极 720 的同心管,电极 720 的暴露表面由形成图案的电介质层 725 所限定,电介质层起到边界作用,从而在电极 720 上形成流体保留区域。类似的,可以使用同心管冲洗各种其他表面上的检定范畴,检定范畴最好但不是必须由流体边界限定。最好如此构造管,以便外管以足够高的效率除去流体,从而防止流体扩散到冲洗的区域以外的区域。在可替代实施例中,内管和外管的功能也可以互换,这样通过外管分配冲洗流体,而通过内管抽吸达到中央。管的这些布置防止了检定范畴上的未结合检定试剂接触检定模块的其他表面。

[0183] 在另一个可替代实施例中,使用具有三个同心管的管结构来为检定范畴上的检定试剂形成图案并且冲洗检定试剂。使用第一管(最好是内管)来微分配检定试剂到检定范畴上。此管最好与少量流体分配控制器连接,例如微型注射器(或具有电磁阀的流量控制器)或压电分配器。使用第二管(最好是中管)分配大量冲洗试剂到检定范畴上。使用第三管(最好是外管)从检定范畴抽吸多余检定试剂和/或冲洗试剂。使用此布置,可以使用单个装置来分配检定试剂到检定范畴上(例如,以便导致检定试剂局部固定在检定范畴上),并且从检定范畴冲洗多余检定试剂,可以进行这些操作,而检定试剂不会污染邻近表面。可选地,使用这些装置的阵列来为检定范畴的阵列形成图案并冲洗检定范畴的阵列。

[0184] 此发明部分地涉及检定盒。本发明的检定盒包括一个或多个射流部件,例如间隔室、容器、腔室、射流导管、流体端口/出口、阀门等,和/或一个或多个检测部件,例如电极、电极触点、传感器(例如,电化学传感器、流体传感器、质量传感器、光学传感器、电容传感器、阻抗传感器、光波导等),检测窗口(例如,构造为允许光学测量盒内的试样的窗口,例如吸光率、光散射、光折射、光反射、荧光性、磷光、化学发光、电致化学发光等测量)等。盒也可以包括用来实现检定的试剂,例如结合试剂、可检测的标记、试样处理试剂、冲洗溶液、缓冲剂等。试剂可以以液态形式、固态形式存在,和/或固定在盒内固相支撑件的表面上。本发明的某些优选实施例,包括具有如上描述的电极阵列和/或结合区域(例如图 1-4 中描述的电极阵列)的检测腔室。

[0185] 最好使用某些预定的设计方针来设计射流部件,并包括在盒主体中,从而形成射流网络。每一个部件的设计方针依赖于一个或多个因素,例如盒主体设计(即单件主体、多

件主体、模块主体、单个读出腔室、多个读出腔室等)、制造过程(例如注模法、吹塑法、热冲压、铸造、加工等)、材料(例如丙烯酸、PVDF、PET、聚苯乙烯、聚丙烯等)、检定要求(例如结合检定、竞争性结合检定、单个步骤检定、两个步骤检定等)、功能要求(例如试样尺寸、检定试剂量、检测技术、时间结果比、培育、加热、混合/搅拌)、安全/处理要求(例如自我保留、调整核准、易于使用等)等。

[0186] 本领域的普通技术人员很容易选择适合于本发明的盒制造的材料。适合的材料包括玻璃、陶瓷、金属和/或塑料,例如丙烯酸聚合物(例如透明合成树脂)、缩醛树脂(例如迭尔林)、聚偏二氟乙烯(PVDF)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚四氟乙烯(例如,特氟纶)、聚苯乙烯、聚丙烯、ABS、PEEK等。材料最好对在使用或存储盒期间与它们发生接触的任意溶液/试剂不起化学作用。在某些优选实施例中,盒的至少部分由透明或半透明材料制成,例如玻璃或丙烯酸聚合物,从而提供窗口以允许对盒内的流体或表面进行光学询问,例如用于分析在盒检测腔室内的成分,或通过盒内限定的射流网监控和控制液体运动。

[0187] 本发明的一个优选实施例是一种盒,其包括一个或多个试样腔室,一个或多个检测腔室(检测腔室最好适合用于以上描述的ECL测量)以及一个或多个废料腔室。腔室通过流体导管串联连接,以便引入试样腔室的试样能够输送到一个或多个检测腔室中进行分析,随后进入一个或多个废料腔室进行处理。此盒最好也包括一个或多个试剂腔室用于存贮液体试剂,试剂腔室通过导管连接到其他部件,以便允许将液体试剂引入特殊试样中或检测腔室中。盒也可以包括与试样、检测 and / 或废料腔室射流连通的通气口(直接或通过出口导管),以便通过施加正或负气压,允许腔室内流体与大气平衡,或允许流体进入或移出指定腔室的定向运动。

[0188] 在一个替代实施例中,试样腔室和废料腔室都位于检测腔室的上游,检测腔室具有第一和第二入口/出口导管(检测腔室最好具有细长形状、入口/出口导管位于或邻近细长形状的相对端)。构造此盒,从而允许试样通过第一入口/出口导管而引入检测腔室,随后流动反转,将试样流体回导出第一入口/出口导管,并进入废料腔室。试剂腔室最好位于检测腔室下游,并且构造盒,从而允许通过第二入口/出口导管将试剂引入检测腔室(即在相对试样引入的“反转流动”)。此布置尤其适合经受强试样干扰的测量,对于从检测腔室中冲洗残余试样,反转流动尤其有效。此实施例对于包含带亚硝酸的提取缓冲剂的试样中用于标志(例如,革兰氏阳性细菌的细胞壁标志)的基于ECL的检定尤其有用(例如,参看2002年12月26日提交的标题为“Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction”的美国临时专利申请60/436,591中披露的提取方法和试剂,在此作为参考)。本发明的一个优选实施例使用构造为反转流动冲洗的盒,以对包括链球菌物质的上呼吸病原体 and 可选的如A和B和RSV型流行性感冒的其他病原体的组实施ECL结合检定(最好通过使用靠着病原体标标的抗体阵列,最好是在一个或多个电极上形成阵列,最优选是上述的、在图1-4中的电极阵列)。

[0189] 反转流动冲洗大大减少了亚硝酸对ECL测量的有害影响。在优选实施例中,冲洗效率是这样的:在冲洗后,残余在检测腔室内的试样(或试剂)的小部分少于1/1000,更优选少于1/10,000,最优选少于1/100,000。

[0190] 试样腔室是形成在盒内的腔室,其适合接收在盒中进行分析的试样。试样腔室包括将试样引入腔室的试样引入端口。端口最好是盒中的开口,其给试样腔室提供通道。作

为另一种选择,端口可以是膜或隔片,通过该膜或隔片可以注入试样到试样腔室中,例如通过使用针或套管。盒最好也包括可密封的闭合物,其用于密封试样引入端口和防止试样泄漏以及使用者和/或相关仪器在生物危害中可能的暴露。密封/压盖机构最好利用铰接构造,以便试样腔室易于存取和密封。在特殊优选实施例中,密封/压盖机构包括柔性铰链,例如橡胶、塑料等。试样腔室最优选适合于并且构造来接收模块化可分开插入物,该插入物包括用于密封试样腔室的盖子。在试样腔室内使用模块化可分开插入物也允许为盒主体独立选择材料。在一个可替代实施例中,通过将胶带应用到端口上来实现试样引入端口的密封。试样腔室可以包含用于进行检定的干燥试剂,其在加入液体试样时重新构成。可选地,试样腔室包括用于防止盒内试样起泡的抗泡沫剂。

[0191] 试样腔室连接到试样导管上,用于将流体从试样腔室传送到盒内的其他射流部件上。试样腔室也可以连接到通气口和/或试剂腔室上(例如通过射流导管)。在一个用于接收液体试样的优选构造中,试样腔室连接到试样导管和通气口上。在图 27 中显示了一个优选实施例的截面视图。试样腔室 2710 具有试样引入端口 2720,并且连接到试样导管 2730 和试样通气口 2740 上(通过出口导管 2750)。有利地布置试样导管 2730,从而在腔室底部或邻近腔室底部处与试样腔室 2710 相交(相对于操作期间盒定位),以便允许大部分试样的有效传递,而不会产生气泡。有利地布置出口导管 2750,从而在试样导管 2730 上方与试样腔室 2710 相交,并且布置在比预期试样填充面高度更高的高度上,从而避免了可能的仪器污染和/或试样流体的逸出。出口导管 2750 在射流导管内最好具有足够的体积,使得例如由如果试样起泡或具有气泡所观察到的,少量试样流体可以进入导管,而无需一直拉到通气口 2740。在一个实施例中,如在图 9 中所描述的,容器/捕集器 975 可以布置在射流导管内。在另一个实施例中,如在图 20 中所描述的,射流导管可以延伸/延长,例如利用蜿蜒形构造 2030。

[0192] 能够使用盖子 2760 来密封试样引入端口 2720,而无需防止气流通过出口导管 2750。在图 27 中,通过盒主体 2770 内的凹槽(例如通道)或孔,并且通过密封盒主体 2770 的覆盖层 2780,来形成射流隔室和导管。试样腔室 2710 具有内突起部分 2790。出口导管 2750 包括从盒主体 2770 底部到突起部分 2790 顶面的垂直孔。此布置提供了简化的制造过程,其配合盒主体的注模或加工;对本领域的普通技术人员来说,出口导管的其他布置是很明显的。

[0193] 在一个试样腔室实施例中,省略了分开的通气口和出口导管,试样引入端口也提供通气口,例如试样引入端口孔眼也起到通气口的作用。也可以通过密封/压盖机构的顶部,通过例如在密封/压盖机构顶面包括出口孔,来提供通气口。可替代实施例可以使用一种设计,盒读出器自身包括刺穿/开孔机构,其适于并且构造为刺穿通过柔性密封/压盖机构的顶部表面。在一个特殊优选实施例中,当刺穿/开孔机构退回/移走时,密封/压盖机构适于自我密封并且构造为能够自我密封,例如通过使用最好包括弹性体材料的隔膜。自我密封盖子机构的好处是:一旦移走刺穿/开孔机构,试样不会从试样腔室逸出。

[0194] 试样腔室也可以包括过滤器,例如用来去除试样本身内存在的或由于使用药签等将试样引入试样腔室而存在的颗粒物质。优选实施例可以使用过滤器,其不仅能去除任意颗粒物质,还可以设计用来将红细胞(RBC)从血浆中分离;例如,在特殊检定/检定形式需要血浆作为试样的场合。这样的过滤器可以是一个整体式交叉流过滤器、内嵌过滤器等。

最好在试样导管入口处或邻近试样导管入口处布置过滤器。

[0195] 在一个从固体基体或包含固体的基体中提取分析物的优选实施例中（例如从吸附性材料（例如棉球、滤纸片等）、涂抹器棒、污物、食物、沉积物、排泄物、组织等中提取分析物），试样腔室连接到包含提取试剂的试剂腔室（例如通过试剂导管），例如在美国临时专利申请 60/436,591 中披露的提取试剂，该申请于 2002 年 12 月 26 日提交、标题为“Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction”，在此作为参考。在此使用的涂抹器棒指的是试样收集装置，其包括伸长手柄（最好是杆或直棱柱）以及试样收集头（最好包括吸附性材料，或作为另一种选择，构造用来从表面或生物组织上收集试样的刮片），并且包括试样收集药签和组织刮具。布置试剂导管和试样导管为最好在腔室相对端或邻近腔室相对端处与试样腔室相交，以便经过试剂导管引入的试剂在进入试样导管前移动通过试样。更优选的是，试样腔室具有伸长形状，布置两个导管，从而在长度相对端或邻近长度相对端处相交。试样腔室也可以包括去除固体材料的过滤器，如以上所描述的。从固体材料提取分析物，尤其是从如药签头中可以找到的多孔网眼提取分析物，可能导致气泡和气隙引入形成的流体流。试样腔室或下游的射流部件（例如试样导管）最好包括气泡捕集器，以去除提取步骤期间引入的空气。

[0196] 图 28 显示了用于从固体或含固体的基体中提取分析物的试样腔室的一个典型实施例的截面视图。细长的试样腔室 2810 具有试样引入端口 2820，该端口配备了如以上所描述的可密封的闭合物。试样腔室显示为容纳了涂抹器棒、具有吸附性药签头 2835 的特别药签 2830。布置试剂导管 2840 和试样导管 2845，在药签头 2835 的相对侧上与试样腔室 2810 相交，以便通过试剂导管 2840 引入的提取试剂，在进入试样导管 2845 前通过药签头 2835。可选地，可以包括过滤器元件 2848，以从提取的试样中去除微粒。围绕插入的涂抹器棒的头的区域内的试样腔室 2810 的宽度，优选要小于涂抹器棒插入期间需要穿过该区域的涂抹器棒最宽的区域的两倍（更优选小于 1.5 倍，甚至更优选小于 1.2 倍，最优选等于或小于 1.0 倍）。作为另一种选择，围绕插入涂抹器棒的头的区域内的试样腔室 2810 的截面面积，小于需要通过该区域的涂抹器棒的最宽区域的截面面积的四倍（更优选小于两倍，最优选小于或等于 1.0 倍）。当用来从多孔可压缩材料（例如具有多孔可压缩头的药签）提取试样时，选定试样腔室宽度，使得围绕涂抹器棒头的宽度足够窄，以便材料充满腔室的大部分或全部宽度（确保提取缓冲剂最有效地流过材料流动），但要有足够宽度，以便材料易于插入，而无需过分加力，并且不会导致材料内流体的泄漏到盒外表面上（可选地，两个性能都可以通过使用这样的腔室来实现，即，相对于固定的涂抹器棒，腔室围绕头的区域要窄于围绕杆的区域）。在某些优选实施例中，同时实现这些性能。有利地，密封试样端口 2820 防止从试样腔室 2810 端部释放空气，并且防止提取试剂从试样导管 2845 浪费地流走。可选地，设计药签 2830 和 / 或腔室 2810，以便药签 2830 完全位于腔室 2810 内。作为另一种选择（如图所示），涂抹器棒太长而不能位于腔室 2810 内（例如，从喉部或鼻腔收集黏液试样所需要的药签长度太长，而不能配合盒的理想形状因数内），但在其引入腔室 2810 之前或最好在其引入腔室 2810 之后，截断（如弄断、折断、切断或另外分离）涂抹器棒，以产生包含试样收集头的截短的棒片段。截短的片段足够短，从而能位于腔室 2810，并且允许闭合物 2825 进行密封。在某些实施例中，通过提供例如反转可分离的头或通过在杆内包括弱点以便易于杆的折断，药签设计得便于分离。

[0197] 将例如药签 2830 的涂抹器棒引入试样腔室 2810 的一个方法包括：i) 将其引入腔室 2810；ii) 截断药签杆，从而形成头部分（包括头）以及杆部分，iii) 通过密封闭合物 2825 将头部分密封在腔室 2810 内。此方法可以进一步包括：iv) 通过试剂导管 2840 引入提取试剂；v) 通过将提取试剂通过药签头 2835，从药签头 2830 提取分析物；以及 vi) 通过试样导管 2845 去除提取的分析物。提取的分析物随后可以导向检测腔室，进行分析。在一个优选实施例中，通过在药签 2830 的杆的暴露端施加垂直与腔室 2810 长度的力来截断杆，以便在腔室 2810 的边缘 2827 处折断杆，并且允许去除延伸到腔室外的杆的那部分。在截断杆之前，药签头 2830 最好位于靠着腔室 2810 的相对端。

[0198] 在一个特殊优选实施例中，构造药签 2830 的杆，使其具有弱点（如弱点 2837 所示），以便施加的力导致药签 2830 在弱点上可再现地折断。药签杆最好包括应力 / 应变集中特征（凹口、刻痕等），例如通过在弱点处制造更窄的药签杆或通过“刻划”杆（即在弱点处将一个或多个凹口切割或蚀刻到杆内）来产生弱点。凹口最好形成围绕杆的环路，以便杆可以在任意方向折断。当在车床上转动涂抹器棒时，可以通过在杆内切割上凹槽（例如用工具或激光）来制造这样的凹口。最优的，定位弱点，以便当杆插入腔室 2810 时，其与边缘 2827 充分接近，以便能够施加足够的力来折断此杆，而且与头 2835 充分靠近，以便闭合物 2825 能够密封。

[0199] 试样腔室也可以包括额外的被动和 / 或主动特征，从而促进药签在试样腔室内易得到的且可再现的折断。被动特征可以包括一个或多个例如试样腔室自身的几何构造 / 布置（例如沿试样腔室长度的曲率或角度）、集中力元件（例如试样腔室的内壁突起）等。主动特征可以包括一个或多个在试样腔室内部布置和构造的用于截断药签的促动机构，例如类似于雪茄切割器的“切断”装置，通过使用者在装置上施加力来促动此装置。

[0200] 图 29 显示了试样腔室 2910，是试样腔室 2810 的改进。试样腔室 2910 具有由突起 2990 限定的收缩，该突起从腔室壁向内突出，从而在腔室内形成集中力元件。如图中所说明的，将侧向力施加到位于试样腔室 2910 内的药签 2930 上，导致了药签杆与一个或多个突起 2990 接触。侧向力因此集中在药签上的一个位置，促进了药签在此位置的折断。优选的是，设计 / 选定药签和试样腔室，以便药签在相同位置（最好在此位置刻划药签）具有弱点（如弱点 2937 所示）。

[0201] 在特殊优选实施例中，构造试样腔室，从而导致涂抹器棒在插入时弯曲，因此促进了杆的折断。图 30 显示了试样腔室 3010，是试样腔室 2810 特别优选的改进，其沿长度具有弯曲或角 3015，这样试样腔室具有朝向一个方向的第一伸长区域（在弯曲或角的一侧）以及朝向第二方向的第二伸长区域（在弯曲或角的另一侧），两个区域以相对于彼此一个角度定向。如图 30 所示，药签 3030 插入导致在药签杆上的位置和角或弯曲的内表面上的位置之间的接触。此接触集中了在该位置上的力，并且促进了杆在该位置的折断（从而形成头部分 3071 和杆部分 3072）。试样腔室的宽度最好设计得紧贴容纳药签头，但不要太紧而使得插入药签需要过大的力。最优的是，设计 / 选择药签和试样腔室，以便药签在接触位置或接近接触位置（最好在此位置刻划药签）上具有弱点（如弱点 3037 所示）。申请人发现此布置允许在一个简单操作中同时实现插入和折断药签。有利地，折断是特别可再现的，并且无需导致试样从盒排出的猛烈运动就能发生。优选角度或弯曲度是 20-90 度，更优选是 30-70 度，甚至更优选是 40-50 度，最优选为 45 度。虽然图 28、29 和 30 说明了使用药签

的实施例,此技术可适用于其他类型的涂抹器棒。

[0202] 试剂腔室是适合保持在盒内进行检定期间所使用的液体试剂的腔室。对于盒的优选实施例来说,试剂腔室的设计考虑部分依赖于由盒进行的特殊检定。例如,盒可以具有一个、两个或多个试剂腔室,这取决于检定形式所需要的试剂数量。保持在试剂腔室内的液体试剂包括缓冲剂、检定稀释液、包含结合试剂(例如蛋白质、受体、配体、半抗原、抗体、抗原、核酸等)的溶液、包含酶和/或酶底物的溶液、包含控制试剂的溶液、包含 ECL 共反应物的 ECL 读出缓冲剂(例如叔胺,例如对二氮己环-N, N'-二(2-乙磺酸)和三丙胺)、冲洗溶液、抗泡沫剂、提取试剂(例如包含清洁剂、酸、碱、亚硝酸、硝酸盐等)等。盒可以具有一个、两个或多个试剂腔室,这取决于如检定形式所需要的试剂数量。对于盒的优选实施例来说,试剂腔室的设计考虑部分依赖于由盒实现的特殊检定。试剂腔室连接到试剂导管,用来将试剂从腔室传递到盒内的其他射流部件中。试剂腔室最好也连接到试剂通气口(可选地,通过试剂出口导管)。导管与腔室的连接的布置,具有如对试样腔室、试样导管和试样端口所描述的类似的设计考虑;试剂导管最好在底部或靠近底部处与腔室相交,而试剂出口/出口导管在顶部或靠近顶部处与腔室相交(相对于使用期间的盒定位)。可选地,将过滤器元件放置在试剂导管前或放置在试剂导管内,例如,如果预期该试剂溶液包含微粒,该微粒可能阻塞盒射流或对检定性能产生其他负面影响。

[0203] 在本发明的一个实施例中,盒具有一个或多个试剂隔室,该隔室是空的或仅包含干燥的试剂。在进行检定前,使用者或盒读出器将液体试剂分配到这些腔室内(例如通过试剂通气口或通过类似于以上描述的试样引入端口的试剂引入端口),可选地,其重新构成了腔室内存在的任何干燥剂;由此制备的试剂用于检定。可以使用可密封的闭合物来防止在添加试剂之后试剂的泄漏。

[0204] 在检定需要使用液体试剂的地方,这些液体试剂的一些或全部最好以液体形式存储在试剂腔室中,以便将使用者或盒读出器必须进行的操作数量和复杂性最小化。在一个优选实施例中,在盒生产和随后的密封中,可以用必备的检定试剂填充试剂腔室。当用于储存液体试剂时,设计试剂腔室,以便在存储期间防止试剂从腔室泄漏和/或蒸发损失。在特殊优选实施例中,检定试剂包括在检定试剂模块中,该检定试剂模块在制造期间装配到盒的检定试剂腔室中。通过设计具有理想性能的检定模块,例如防止泄漏和蒸发损失等,盒其余部分的设计和制造大大得到简化。在这样的优选实施例中,检定试剂释放机构最好合并入盒读出器中,以便从试剂模块释放检定试剂。检定试剂释放机构最好适合于并且构造得接合试剂模块并释放/恢复其内容物。

[0205] 试剂模块是一个贮存器,例如安瓿(例如玻璃、塑料等)、袋囊(例如塑料、金属箔、塑料/金属箔层压制品、橡胶等)、泡罩包装、注射器等,或任何其他贮存器,该贮存器能够填充流体、密封并放入盒内,以便随后的流体传送。优选材料包括玻璃、具有良好水蒸汽不渗透性能的塑料(例如循环烯烃共聚物,诸如乙烯和降冰片烯的共聚物、尼龙 6、聚羧二甲酸乙二醇酯、聚偏二氯乙烯和聚氯三氟乙烯)以及金属箔/塑料层压制品,因为其化学惰性和对蒸发损失的阻抗,对普通技术人员来说其他适合的材料是显然的。安瓿最好包括在冲击下能损坏或破裂的材料,例如玻璃或硬塑料。包含易碎安瓿的实施例最好也包括过滤器,从而确保安瓿破裂所导致的所有这些碎片不会进入射流网以及对于流体流动造成可能的阻隔/妨碍。图 19 描述了盒的剖面顶视图,其显示了腔室 1510 和 1511 底部的过滤器

1515、1516。这些过滤器可以整体模制 / 加工、蚀刻等到相应腔室中。作为另一种选择,如在描述了盒主体底视图的图 20 中所说明的,过滤器 2020、2021 可以是分开的部件,其在制造 / 装配过程期间包括在相应腔室中;例如,能够插入 / 卡扣进腔室内的接受器中的过滤器插入物,布置和构造该接受室,从而接合地接收过滤器插入物。

[0206] 用于释放易碎安瓿的内容物的检定试剂释放机构可以是开动以在安瓿上施加力的简单机械装置,例如剧烈打击安瓿从而打破安瓿,并且将其内容物释放到检定试剂腔室中。图 21 描述了使用检定试剂安瓿 2120、2121 的试剂腔室的一个优选实施例。优选的是,最优选由柔性材料制成的覆盖层(图中未示),被密封到盒主体的顶部,以便安瓿破裂后液体不会从盒中泄漏(例如,参看图 14 中的覆盖层 1401)。图 21 也显示了检定释放机构 2110(最好为盒读出器的一个部件),促动该释放机构,以便锤子元件 2115 最好通过打击柔性覆盖层来打击安瓿,覆盖层随后将冲击力传递到安瓿(最好同时保持完整,以便其将释放的液体限制在试剂腔室中)。可以观察到:用足够的冲力迅速打击安瓿产生更完全的安瓿破裂,因此更有效的释放出检定试剂。而在量级上增加直至最终安瓿破裂的缓慢施加的力,导致不太完全的破裂以及较低效的检定试剂的释放。

[0207] 在可替代实施例中,可以使用可刺透贮存器,例如袋囊或泡罩包装。可刺透贮存器最好具有用塑料膜、金属箔、最优选是金属箔 / 塑料膜层压制品制成的可刺透壁。在这样的实施例中,检定试剂释放机构能够使用穿刺设计。图 22 显示了用于保持可刺透贮存器的试剂腔室的一个优选实施例的分解图。试剂腔室 2210 具有位于腔室底部的穿刺尖端 2212。腔室 2210 连接到试剂导管 2216 上,并且可选地连接到出口导管(图中未示)上。试剂模块 2220 包括模块主体 2230,最好由注模塑料制成,其限定了流体隔室的壁,具有第一开口 2232 和第二开口 2234。流体通过第一开口覆盖物 2242 和第二开口覆盖物 2244 密封在隔室内,覆盖物最好由塑料-金属层压制品制成(最优选是涂覆了铝的聚酯薄膜)。模块 2220 最好也具有榫舌 2250,其装配在腔室凹槽 2214 内,以便使模块 2220 在腔室 2210 中正确对齐,并且使模块保持在穿刺元件 2212 上方的提升位置。腔室 2210 最好也具有腔室覆盖层,其防止模块 2220 破裂后从腔室泄漏试剂。最好通过柔性腔室覆盖层,将阈值向下的力作用到模块 2220 上,模块 2220 推靠到尖端 2212 上,刺穿第一开口覆盖层 2242 并且将试剂释放到腔室中。模块 2220 最好也包括第二穿刺尖端 2236,其通过悬臂依附在模块壁上(第二穿刺元件和悬臂最好与模块主体为一整体;这样的部件易于制造,例如通过注模制造)。当穿刺尖端 2212 利用第二尖端元件 2236 刺穿模块内第一开口覆盖层 2242 时,穿刺尖端 2212 推挤第二穿刺尖端 2236,直到其刺穿第二开口覆盖层 2234,在模块 2220 中制造第二开口,促进从袋囊中提取流体,即将袋囊自身开口。

[0208] 在另一个实施例中,液体试剂存储在包含注射器腔室和柱塞的注射器内。腔室可以是盒的完整部件,是插入盒的模块,或使用前依附(例如,通过螺式连接)于盒上的分开部件。柱塞的促动可以用来将注射器的内容物释放到试剂腔室中,或作为另一种选择,将内容物直接传递到盒的其他射流部件上。

[0209] 基于盒的检定系统的重要考虑涉及:使用前盒的长时间存储;即盒的“保存限期”。某些检定试剂(尤其生物试剂和 / 或结合试剂,例如酶、酶底物、抗体、蛋白质、受体、配体、半抗原、抗原、核酸等),当溶解在液体介质中时,需要特殊处理和存贮,以改善其保存限期。在某些例子中,即使严格按照特殊处理和存储要求来处理 and 存储溶解在流体介质中

的检定试剂,其保存限期仍是非常短暂的。此外,进行特殊处理和存储要求的需要,增加了使用该试剂的基于盒的系统的复杂性和成本。通过使用更固定的干燥或脱水形式的检定试剂,特殊处理和存储要求能充分减少,如果不是完全去除的话,并且能够将系统复杂性和成本最小化。干燥试剂的使用也能简化混合操作,并且减少盒的体积和重量。包括在干燥形式中的试剂包括:生物试剂、结合试剂、pH 缓冲剂、清洁剂、抗泡沫剂、提取试剂、阻断剂等。干燥试剂也可以包括赋形剂,用于稳定例如糖类(例如蔗糖或海藻糖)的干燥试剂。因为检定可能遇到酸性或碱性试样(例如本质上是酸性/碱性的试样和/或用酸性/碱性的试剂提取的或另外处理过的试样),干燥试剂可以包括中和试剂(例如 pH 缓冲剂的酸碱)。在涉及用核酸提取试样的特殊优选实施例中,提取的试样通过包含碱或更优选是缓冲剂的碱形式(例如,Tris、Hepes、磷酸盐、PIPES 等)的干燥试剂。包括足够量的碱或缓冲剂,使得提取的试样的 pH 值达到与随后在试样上进行的检定反应(例如与结合试剂的结合反应)相容的值。

[0210] 在基于盒的检定系统中可以以许多方法来使用干燥试剂。如以上所描述的,干燥试剂可以存储在试剂腔室中,在使用前由使用者或盒读出器设备将试剂腔室注满。类似地,干燥试剂可以存储在其他射流部件中,例如在射流导管或腔室内,最优选在连接试样和检测腔室的射流导管内。通过导管或腔室的液体(例如液体试样或液体试剂)的引入或导致了干燥试剂的溶解。在盒制造期间,可以通过在适当的射流部件内沉积,例如通过以粉末或丸状形式沉积试剂或通过丝网印刷的墨包含干燥试剂,来插入干燥试剂。作为另一种选择,试剂可以插入溶液中,并随后进行干燥从而去除溶剂。在一个优选实施例中,可以在基底上这样形成干燥的试剂:通过将包含试剂的溶液沉积在一个或多个预定位置、并且随后干燥该试剂从而在一定条件下形成干燥的试剂丸,使得在添加了液体试样或适当溶剂时,干燥试剂溶解在溶液中。在此使用术语的“丸”通常指的是基底上一定量的干燥的但可以再溶解的试剂,并且不意味着任何特殊的三维形状。丸在基底上的位置在此称为“丸区域”。基底最好是盒的部件,例如盒主体、腔室、覆盖层、电极阵列等。丸区域的适当定位包括:试样腔室、试剂腔室、试样导管和试剂导管,以便液体试剂和试样在其引入检测腔室之前就获得干燥试剂。作为另一种选择,试剂丸可以位于检测腔室的自身内。在图 13a 描述的优选实施例中,在覆盖层 1322 上的两个预定丸区域内形成干燥试剂丸。在另一个优选实施例中,试剂腔室保持安瓿内的液体试剂和干燥试剂丸,以便在安瓿破裂时,重新构成干燥试剂。此布置对于制备含活性成分的试剂是有用的。在一个实例中,安瓿包含酸,例如乙酸,而干燥试剂是硝酸盐,这样安瓿的破裂导致了亚硝酸的生成。

[0211] 干燥的试剂沉积的丸区域可以通过边界指定,该边界将沉积溶液(并且因而在溶液干燥后留下的干燥的试剂)的量限制在基底的特定区域。根据本发明的一个优选实施例,盒包括通过边界表面限制的丸区域,边界表面被提升或降低(最好是提升)和/或与丸区域具有不同的疏水性(最好比丸区域更疏水)。相对于丸区域内的基底表面,边界表面最好高 0.5-200 微米,更优选是 2-30 微米,最优选是 8-12 微米。甚至更优选的是,边界表面具有急剧限定的边缘(即提供陡峭的边界壁和/或在丸区域和边界之间的界面上具有锐角)。比起边界表面,丸区域表面的水接触角最好小 10 度,优选小 15 度,更优选小 20 度,更优选小 30 度,甚至更优选是小 40 度,最优选的是小 50 度。

[0212] 在一个优选实施例中,通过切割或模制成基底中的凹陷来限定丸区域。在另一个

实施例中,通过应用在基底上的边界材料来限定围绕丸区域的边界表面。在一个实例中,通过应用到基底的膜或衬垫内的切除部分来限定丸区域,最好是胶带的膜的切除部分。在另一个优选实施例中,通过以一种方式应用涂层来物理限定边界,该方式使用例如形成形成图案的涂层的成熟技术,例如光刻、形成图案的沉积、丝网印刷术等来限定丸区域边界。在一个实例中,形成图案的电介质涂层可以丝网印刷在基底材料的表面上,图案包括孔眼,其边界限定了丸区域。试剂随后分配在丸区域边界内的基底上,并且随后干燥以形成干燥的试剂丸。

[0213] 废料腔室是适于容纳过多或废弃液体的腔室。在某些实施例中,检测腔室也可以起到废料腔室的作用。然而,在某些实施例中,具有单独的废料腔室是有利的,例如,当实现涉及将具有比检测腔室的容量更大的试样量通过检测腔室的检定形式时,或当实现涉及从检测腔室中去除试样的冲洗步骤的检定形式时。废料腔室的尺寸最好根据预计的检定将使用的试样和液体试剂量来确定。最好考虑到的废料腔室的另一个定尺寸相关因素涉及废料流体进入废料腔室时其起泡沫或气泡的可能性。在这种实例中,其中预期会出现泡沫或气泡,废料腔室容量可以充分增大,从而避免这种产生泡沫或气泡可能导致的任何问题。

[0214] 废料腔室连接到废料腔室导管上,最好连接到通气口(例如通过通气导管)。构造废料腔室,从而允许液体废料通过废料腔室导管传送到废料腔室中,并且最好使包含在废料流里的空气通过废料腔室通气口释放。可选地,废料腔室包含吸水材料,例如海绵,其保留废料流体,并且防止废料流体在处理盒时泄漏。当涉及废料腔室的构造和布置时,最好考虑的因素涉及消除或充分减少废料腔室的流体流回(“回流”)入盒射流网的可能性。在特殊优选实施例中,如图10中所说明的,布置/安排废料腔室导管,以便其在点1040、1041处射流连接到废料腔室上,点1040、1041在预期的填充面/线之上(即,通过检定结束时位于废料腔室内的废料流体的量来限定填面/线)。此优选构造充分减少或消除了废料腔室流体流回(“回流”)至盒射流网的可能性。

[0215] 在废料流体的产生气泡/泡沫的情形下,也可能出现回流问题。通气口最好通过具有足够大体积的导管连接,从而允许少量液体进入导管(例如因为废料腔室内的泡沫),而此液体将不会到达通气口(如以上对试样腔室所描述的)。此外,废料腔室通气导管或通气口内可以包含防止浮质塞或选择性通气膜(即选择性地允许气体通过但防止液体通过的材料),从而防止液体从这些通道释放。防止浮质塞通常用于吸液管尖端,从而防止污染吸液管管理器,并且包括允许空气在干的时候通过,但当他们与液体接触时,膨胀并密封通道的材料(例如,注入或涂覆了纤维素羧甲醚的过滤器材料)。

[0216] 在特殊优选实施例中可以采用消除或充分减少废料流体进入废料腔室时引起的泡沫/气泡的额外措施。这样的额外防泡沫/气泡的措施可包括:布置/安排废料腔室导管,以便其在填充线上方的一个位置处进入废料腔室,并且与废料腔室的垂直壁相交,如在图9和10描述的实施例中的进入废料腔室930和931的导管部分910和911所说明的。这种构造允许废料流体以一种方式进入废料腔室,以便允许流体沿废料腔室垂直壁流动。有利地,当其按规定路线进入废料腔室时,这充分减少或消除了废料流体的泡沫/气泡。

[0217] 可以在某些优选实施例中使用的另一个防泡沫/气泡的措施包括垂直网或局部壁,其可以包含在废料腔室上部中。包含这种防泡沫/气泡措施的尤其合适的实施例是图16中描述的两件的盒主体设计。防泡沫网/壁最好包含在位于上部盒部件1500内的废料

腔室 1610、1611 的上部。防泡沫网最好位于废料腔室出口和废料腔室输入之间。防泡沫网的高度最好延伸到废料腔室上部的整个深度,但也可以小于整个深度。作为另一种选择,防泡沫网可以延伸超出废料腔室上部的深度,以便其突出进入废料腔室下部。最好选定防泡沫网的高度,以通过允许液体在网/壁下面流动、但阻塞废料腔室内液体表面上的气泡流动,从而实现最佳的防泡沫。

[0218] 另一个防泡沫/气泡措施是:在废料腔室内或盒的另一个导管或腔室内,包括防泡沫剂,以便进入废料腔室的液体具有较小的起泡沫和/或形成气泡的倾向。

[0219] 检测腔室适合于进行试样的物理测量。检测腔室连接到入口导管。检测腔室最好也连接到出口导管,并且布置作为贯流分析池。如果测量需要照明或光学观察试样(例如,当测量光吸收、光致发光、反射比、化学发光、电致化学发光、光散射等),检测腔室应该至少具有一个透明壁,设置该透明壁以便允许照明和/或观察。当用于固相结合检定时,检测腔室最好包括一个表面(最好是腔室的壁),该表面具有一个或多个固定在其上(最好是固定的结合试剂的阵列,最优选是固定的抗体和/或核酸的阵列)的结合试剂(例如抗体、蛋白质、受体、配体、半抗原、核酸等)。在一个特殊优选实施例中,检测腔室是如以上所描述的电致化学发光检测腔室,最优选具有固定在一个或多个电极上的一个或多个结合试剂。在一个优选实施例中,盒包括工作电极,结合试剂阵列固定在电极上。在另一个优选实施例中,盒包括独立受控的工作电极阵列,每一个具有固定在其上的结合试剂。优选的是,在使用结合试剂阵列的盒中,阵列的至少两个元件包括在所关心的分析物特性方面有所不同的结合试剂。用于基于 ECL 的盒系统的适当检测腔室、电极阵列和固定的结合试剂的阵列,在上面进行了详细描述,并且包括图 1-4 中显示的实施例。

[0220] 检测腔室最好布置在细长的贯流分析池的设计中,在或邻近细长尺寸的相对端具有入口和出口。根据应用、制造方法、试样尺寸等,贯流分析池尺寸可以在从纳米到几十厘米的范围内变动,容量从皮升到毫升的范围内变动。某些优选实施例具有从 0.05-20mm 范围的宽度,更优选是 1-5mm,而高度(最好小于或等于宽度,以便对于给定的容量,增加检测腔室底部的表面区域,尤其当此表面用于固定结合试剂时)范围从 0.01-20mm,更优选是 0.05-0.2mm。高度最好小于或等于宽度。检测腔室最好设计为容纳 0.1-1000uL 容量的试样,更优选是 1-200uL、更优选是 2-50uL、最优选是 5-25uL。在受试样容量限定的实施例中(例如盒测量来自手指刺破的血),特殊优选的检测腔室容量小于 10uL,更优选是 0.5-10uL、甚至更优选是 2-6uL。贯流分析池最好具有大于或等于其高度的宽度。

[0221] 盒可以包括一个或多个检测腔室。包含多个检测腔室的盒,其每一个检测腔室可包括单独的射流系统(例如,多个试样腔室和/或试剂腔室以及相关的射流导管),以便并行实现多个试样的检定。在某些优选实施例中,多个检测腔室连接到单个试样腔室上,并且可以共同使用其他射流部件的使用,例如试剂腔室、废料腔室等。在这些实施例中,可以使用两个检测腔室来实现不同组的检定,从而相对于具有一个检测腔室的盒来说,增加了对试样可以进行的测量数量。有利地,使用多个检测腔室允许在单个盒中进行多个不相容的测量,这些测量是不能在单个反应体积内实现的,或受益于在单独反应体积中来进行,例如对于 pH 值或检定合成物有不同要求或其他彼此负面干扰的测量。

[0222] 在使用多个检测腔室的可替代实施例中,多个检测腔室中的一个或多个用做测量检定控制/校准试样的控制/校准腔室。在一个这样的实施例中,构造第一和第二检测腔

室中的每一个,从而实现一个或多个用于一个或多个分析物的检定的组。使用一个检测腔室(测试腔室)来分析试样。使用其他检测腔室(控制腔室)来分析掺加的试样,其具有预定附加量的一个或多个所关心分析物(此预定附加量,最好通过使试样经过包含附加量的试剂丸区域来提供)。两个腔室之间的信号变化允许计算信号对分析物改变的响应,并且能够用来校准系统,和/或确定盒是否正常工作。在另一个使用控制腔室的实施例,控制腔室不用来分析试样或其派生物,而用于测量单独控制或校准基体内的分析物。控制腔室内的信号可以用来确定背景信号(通过使用无分析物的基体)、校准仪器(通过使用具有预定量的分析物的校准器基体来确定校准参数)或确定盒是否正常工作(通过使用具有预定量的分析物的控制基体,并且确定信号是否在预定可接收范围内)。

[0223] 盒射流可以包括气泡捕集器。气泡捕集器是适合于从流体流中去除气泡的腔室或导管。在试样和检测腔室之间最好存在气泡捕集器,以便试样中的气泡可以在试样进入检测腔室之前被去除。图 31 显示一个典型实施例的截面视图,并且显示了连接到入口导管 3140 和出口导管 3145 的气泡捕集腔室 3110(入口和出口导管最好位于腔室 3110 底部附近)以及通气口 3150。液体通过入口 3140 进入腔室 3110。腔室 3110 最好足够宽,以便进入腔室的液体中的气泡能升到腔室顶部,并且通过通气口 3150 排出。无气泡的液体随后通过出口 3145 排出。可选地,可以省略出口导管 3145;在此实例中,通过入口导管 3140 引入液体,气泡通过通气口 3150 排出,液体随后通过入口导管 3140 排回。可选地,透气但防水的膜(例如,由 Gortex 材料制成的膜)位于入口 3140 和通气口 3150 之间。当包含气泡的液体或存在于由气体柱分段的流中的液体通过导管时,气体/气泡将经过膜,并且通过通气口 3150 排出(最好在通气口 3150 上施加吸力来辅助此过程),从而确保液体不会通过通气口 3150 排出(可选的膜显示为膜 3190)。

[0224] 射流导管可位于盒内的任意位置并且以任意角度定向。有利地,射流通道主要位于平面网内,最好接近外表面(例如,图 11a-c 中显示的盒的顶部 901、902 或底部 903 表面),从而允许多层盒设计,其使用例如机加工、冲切、激光切割和/或模制的盒主体部件。优选导管几何形状包括截面是圆形、椭圆形、正方形或长方形的截面。宽度最好接近于高度,以便对于特别的截面区域将表面区域最小化。根据应用、试样容量和盒设计,宽度和高度可以从纳米到厘米的大范围内变化。宽度和高度的优选范围是 0.05 到 10mm,更优选是 0.5 到 3mm,最优选是 1 到 2mm。适于例如来自手指刺破的血这样的低容量试样的盒可以具有小型导管,具有的高度/宽度最好< 1mm,优选在 0.4 到 1.0mm 之间。

[0225] 射流通道最好利用“z 转换”,该转换在平面之间安排流体流动路径。具有这种 z 转换的导管可以包括顺序布置的第一、第二和第三导管部分,第一和第三导管部分位于不同平面射流网内,而第二导管部分连接两个射流网,并且以相对其他两个部分的一个角度布置。作为实例,在图 11a-c 中所示的盒中,“z 转换”(图 9 中表示的毛细管突变)安排了流体流动/路径:从邻近上部表面 901、902 的射流导管到邻近底部表面 903 的流体导管,反之亦然。Z 转换是有利的,因为其提供了毛细管突变(如以下所描述的),并且允许比起如果将射流导管限制在一个平面上所可能的射流网更复杂的射流网。选择使用/放置毛细管突变,最好为 z 转换,可以用来控制流体被动流动,并且防止流体流的混合。本发明的某些优选实施例使用“双 z 转换”,其是这样一些导管,包括从第一平面网到第二平面网引导流体流的第一 z 转换,将流体流重新引回第一平面网的第二 z 转换,以及在连接两个 z 转换的

第二平面网内的连接部分。这种双 z 转换可以包括串联布置的第一、第二、第三、第四和第五导管部分,第一和第五部分位于第一平面射流网内,第三部分位于第二平面射流网内,定位第二和第四部分以便在两个平面网之间引导流动。

[0226] 在盒内可以以多种方式来形成射流网,这部分依赖于为盒所选定的材料。可以使用任何已知的适于盒主体材料的制造方法,包括但不限于:立体光刻、化学/激光蚀刻、整体模制、机加工、层压成型等。可以单独或组合使用这种制造方法。在本发明的某些实施例中,盒包括盒主体、以及一个或多个与盒主体表面匹配的覆盖层,以便在彼此之间限定一个或多个射流网(最好是平面射流网)。类似的,z 转换和/或端口可选择性地在预定位置模制到盒主体或从盒主体加工,从而在上部和下部表面上的通道之间形成射流连接。

[0227] 可以使用“层压成型”过程制造盒的一个优选实施例,其中盒主体的功能表面用覆盖层密封,从而形成射流网。例如,使一个或多个盒主体表面凹进(例如通道、凹槽、容器等),从而提供在此所称做的“功能表面”。将功能表面密封/匹配到覆盖层,形成了包含射流部件(例如导管、腔室等)的射流网,至少其中一些部分由盒主体的凹进和部分由覆盖层表面所限定。覆盖层最好包括例如聚脂薄膜的塑料薄膜。覆盖层可以涂覆粘合剂,从而靠着盒层密封覆盖层。本领域的技术人员已知将覆盖层匹配到盒主体上的其他方法,例如通过热封、超声波焊接、RF(射频)焊接、通过溶剂焊接(在部件之间应用溶剂,其软化或部分溶解一个或两个表面)、通过使用介入粘合层(例如双面胶带等),来实现密封。有利地,在覆盖层上产生由形成图案的沉积产生的盒特征(例如电极或电介质层的形成图案的沉积和/或试剂的形成图案的沉积,以形成干燥试剂丸或利用固定的结合试剂来形成结合区域),以便利用可利用的自动化操作处理大张或大卷塑料薄膜。

[0228] 凹进可以例如是模制、蚀刻在盒主体内或从盒主体内加工出来。类似的,也可以至少部分地由与盒主体匹配的覆盖层的凹进来限定射流部件。也可以至少部分地由从位于盒主体和覆盖层之间的衬垫层切割出的区域来限定射流部件。盒主体和/或覆盖层的孔眼可以用来给射流网提供进出口,例如试样引入端口、通气口、试剂添加端口等。通过施加正负气压,通气口最好允许腔室内流体与大气平衡,或允许流体进出特定腔室的受导向的运动。最好设计通气口,来防止液体试样或试剂经过端口的泄漏,并且可以包括抗浮质过滤器、膜或过滤器材料,其允许空气流动,但起到了阻碍水溶液的作用(例如,由如 Gortex 的多孔疏水材料制成的过滤器或膜),以及包括对空气是多孔的、但当其与水溶液接触时就会密封的材料(例如纤维素羧甲醚浸渍过滤器)。

[0229] 优选实施例包括具有盒主体的盒,盒主体具有第一侧和最好是相对的第二侧,以及一个或多个与第一侧匹配的覆盖层,从而在其间形成第一射流网,以及一个或多个与第二侧匹配的覆盖层,形成其间的第二射流网。可以使用穿过盒主体的通孔(可以通过模制、蚀刻、机加工等来形成)连接第一和第二射流网并且提供 z 转换。通过使用具有多个盒主体层以及这些层间的附加射流网的层压盒主体,附加射流复杂性可以建入盒内;使用经过不同盒主体层的通孔连接不同的射流网。

[0230] 通过使用包含毛细管突变的射流网,可以实现对于本发明的盒内的液体移动的高度控制,而无需在盒内引入主动阀元件。在此使用的“毛细管突变”是指流体导管内的区域,在毛细作用下或在低于阈值压力以下的低压梯度驱动力下,其起到阻碍液体移动通过导管的作用。在毛细管突变的优选实施例中,施加阈值压力以上的压力起到推动流体通过障碍

的作用。毛细管突变可以设计成流体导管,例如通过引入例如:i) 导管表面上的从可湿表面到不太可湿表面的转换(例如与水的接触角所指示的);ii) 导管宽度内的转换,从促进毛细流动的窄宽度区域到更宽的区域;iii) 导管表面上粗糙度的转换;iv) 急剧角度或方向的改变;和/或v) 截面几何形状的改变。在其他实施例中,流体导管具有嵌入导管内的柔性壁/横隔膜,并且阻碍由低于阈值压力的压力所驱动的流动。施加更大压力迫使柔性壁/横隔膜从流路径中挤出,并让流体流动。横隔膜最好由这样的材料(例如Gortex)制成:其允许气体通过,但防止流体流过直至某个压力。优选毛细管突变涉及流体导管内急剧的角或方向的改变,最优选是以上所描述的“z 转换”。

[0231] 在本发明的一个实施例中,液体进入包含出口导管的腔室,出口导管包括毛细管突变(最好是z 转换)。液体进入出口导管,但在z 转换处停止。随后施加压力梯度(例如,通过给腔室施加正压力,或给导管另一端施加负压力),这导致了液体流过z 转换,进入导管其余部分。

[0232] 射流网也可以包括控制流体流过盒的阀。检定盒或微型射流装置领域的普通技术人员已知多种合适的阀(包括机械阀、基于动电流的阀、基于差分加热的阀等)。然而,在优选实施例中,至少一个、更优选所有主动控制阀元件位于盒外部。在一个实施例中,流体导管具有柔性壁/横隔膜,在没有外力的情况下,其允许流体通过导管。在壁/横隔膜上施加外力(例如,从活塞或通过施加气体或流体静压)导致横隔膜冲击导管,从而阻止流体流动。

[0233] 射流网可以包括至少一个粘性测量导管,最好连接到试样腔室或试样导管上,具有入口和出口。改装导管,以便液体试样能进入导管,并且可以记录液体在导管内两个位置之间移动所需要的时间(最好使用传感器,例如盒内或相关的盒读出器内的阻抗传感器或光学传感器)。使用这种布置可以有利地测量血液或血浆试样的凝固时间。为了测量凝固时间,导管或上游部件最好包括特定凝固测量所需的干燥试剂(例如,活性凝固时间、全血凝固时间、凝血素时间、凝血酶时间、局部促凝血酶原激酶时间等)。

[0234] 以上所描述的通气口最好是盒表面上的孔眼,其与盒内的射流腔室或导管保持射流连通。在层叠盒结构中,可以提供通气口,例如通过密封盒主体的覆盖层内的孔眼,以限定平面射流网,或作为另一种选择,通过暴露在盒主体一个表面上的通孔,其与在相对侧上的射流网连通。通气口起到控制端口的作用,其允许盒读出器控制盒内的流体流动,例如通过结合密封一个或多个端口、朝大气压打开一个或多个端口、将一个或多个端口连接到正压源上和/或将一个或多个端口连接到负压源上。通气口也可以用于将空气引入穿过本发明射流导管的液体流,以便例如用空气柱隔断流体流。空气的引入可用来防止连续通过导管的两个液体柱混合,用于从导管中清除液体,和/或用于提高冲洗步骤的效率。通气口最好在沿盒主体宽度的共同位置上布置成单排。控制点的这种布置和构造有利地允许了简化盒读出器和盒之间的界面。例如,使用这种优选构造允许盒读出器利用单个射流匹配装置,用于将盒放入与盒读出器的射流连通中。这种构造也允许简化运动控制子系统,因为可以使用单个马达或促动装置来促动射流匹配装置,并且将其移入与盒主体的密封接合中。

[0235] 图9是盒900,本发明盒的一个优选实施例的示意图,其包括许多以上描述的射流特征。此典型实施例描述了包含以上所描述的本发明的电极阵列的盒。然而,本领域的普通技术人员很容易为使用其他检测腔室设计和/或检测技术的盒而改进射流部件和设计。

图 9 中显示的盒示意图包括不同隔室,隔室包括试样腔室 920、检定试剂腔室 925、废料腔室 930 和 931 以及检测腔室 945 和 946,检测腔室包括电极阵列 949a 和 949b 以及电极触点 997 和 998。在图 9 中同时描述的是可用作射流控制点的射流端口 / 出口 950-953 和 980、允许腔室与大气压相平衡的通气口、将气泡或气柱引入流体流和 / 或与盒读出器射流连接的端口。图 9 也描述了多个射流导管(如连接不同腔室的管路所示),其建立了连接不同隔间和 / 或流体端口 / 通气口的射流网。射流导管可以包括分配点(例如分支点,比如分配点 976,其适合于将流体分配到盒内的两个或多个位置 / 隔室)。图 9 中所示的其他射流特征包括用于读出器腔室的每个的丸腔室 / 区域 990、991。图 10 描述了通过图 9 的优选实施例中使用的不同射流部件形成的射流网的三维视图。

[0236] 试样腔室 920 是限定在盒 900 内的腔室,其适合于接收在盒内待分析的试样,最好是液体试样。试样腔室 920 包括试样引入端口 921,并且其通过通气导管连接到通气口 953 上,并且通过具有试样导管分支 940 和 941 的试样导管 901 连接检测腔室 945 和 946。盒 900 最好也包括用于密封试样引入端口 921 的可密封的闭合物。试剂腔室 925 是适于容纳液体试剂的腔室,并且包括连接通气口 950 的通气导管以及连接试样导管的试剂导管 902(最好在试样腔室 920 和分配点 976 之间)。同时连接到试样导管的是连接到通气口 980 的空气腔室 / 捕集器 975。此布置允许通过在通气口 980 上施加正压或吸力,将气体添加进射流路径内的流体流中或从流体流中去除气体(例如,对于从试剂腔室 925 或试样腔室 920 引导向检测腔室 945 或 946 的试剂或试样流)。丸腔室 / 区域 990 和 991 容纳了干燥试剂,并且分别位于试样端口 920 和检测腔室 945 和 946 之间的射流路径内,以便经过腔室 / 区域的液体将重新构成干燥的试剂,并且将最终的溶液带入检测腔室内。可以选择性地省略试剂腔室 925、气体腔室捕集器 975、通气口 980 和 / 或丸腔室区域 990 和 / 或 991。

[0237] 检测腔室 945 和 946 适于对试样进行物理测量,最好是电致化学发光测量,最优选是使用电极阵列的测量,构造电极阵列以成对形式触发(如以上所描述的)。可选地,可以省略检测腔室 946。如在图 9 的优选实施例中描述的,比起其各自射流连通的输入和输出通道,检测腔室 945 和 946 具有不同的几何截面。同样地,在读出腔室的输入和输出处包括过渡射流部分(947a、b 和 948a、b)是优选的,这样流体流可以在不同区域之间适当转换。最好这样设计转换,使得转换长度最小化;例如,包括具有尽可能宽的角度扩散器 / 管口,同时足够缓和以防止捕集气泡。检测腔室 945 和 946 通过废料导管 960、961 连接到废料腔室 931 和 930。废料腔室 930 和 931 是构造用来容纳过多或废料流体的腔室,并且也分别通过通气导管连接到通气口 951 和通气口 952 上。通过将真空或压力施加到废料腔室通气口,使用多个废料腔室有利地允许通过多个腔室的流体流受到独立控制。作为另一种选择,仅使用一个废料腔室(例如,省略废料腔室 930,而检测腔室 945 和 946 都连接到废料腔室 931 上)。

[0238] 在对所关心分析物进行结合检定的盒中,丸区域 990 和 991 最好包括标记的结合试剂(例如抗体、核酸、所关心分析物的标记的类似物等),检测腔室 945 和 / 或 946 包括一个或多个固定的结合试剂(最好为固定结合试剂的阵列,最优选固定在用于进行 ECL 检定的电极上),而试剂腔室 925 包括用于从检测腔室中去除试样溶液和 / 或未结合的标记的试剂的冲洗试剂。在检测腔室之一用于控制检定或检定校准的实施例中,关联的丸区域可以包括控制试剂,例如添加的分析物(例如用于掺加回收、校准测量或控制检定测量)。

[0239] 盒 900 的射流网包括 z 转换,其可以起到毛细管突变作用和 / 或允许射流网延伸到多个盒平面上。例如,参看图 10 的 z 转换 1010-1014。试样导管内的 z 转换 1011 和试剂导管内的 1013 起到毛细管突变的作用,其将试样液体和试剂液体限制在其相应的腔室内。通过施加适当的压力梯度,流体可以以可控制和可再现方式从这些腔室移动。通过将其布置在盒的不同层上,z 转换 1060 和 1061 允许废料导管与试样导管分支 940 和 941 交叉。

[0240] 图 13a 和 13b 显示了盒 900 一个实施例的分解图,其包括盒主体 1100 和与盒主体 1100 表面匹配的覆盖层 1324、1350、1320、1321 和 1322。图 11 显示了盒主体 1100 的顶视图(图 11a)、底视图(图 11b)、等轴图(图 11c)。盒主体 1100 的上表面 1101、1102 和下表面 1103 包括(例如通过模制、机加工、蚀刻等)凹进特征,例如通道、凹槽、容器等。密封这些特征,从而通过给盒主体上下部分应用覆盖层来提供盒的腔室和导管。为了允许足够的试样和 / 或试剂容量,盒主体具有包括这些特征(通道、凹槽、容器、隔室等)的较厚的部分 902,其部分限定了试样、试剂和废料腔室。盒的其余部分最好薄得多,以便将盒重量、体积和材料成本最小化,并且在某些优选盒设计的情况下,允许光学检测器尽可能靠近包括在盒底部的覆盖层上的电极顶部表面。

[0241] 通过密封盒主体 1100 上的覆盖层 1324,形成试剂腔室 925、试样腔室 920、废料腔室 930 和 931 以及试样导管、试剂导管和废料导管 960 和 961 的至少部分。通过将覆盖层 1350(具有形成图案的传导层 1360(其形成图 9 所示的形成图案的电极阵列 963)以及形成图案的电介质上层 1365)通过中间衬垫层 1331(最好由双面胶制成)密封到盒主体 1100 上形成检测腔室 945 和 946。检测腔室的深度、长度和宽度由衬垫层内的切割部分 1340 和 1341 所限定。覆盖层 1322 通过衬垫层 1330(最好是双面胶)与盒主体 1100 匹配从而限定导管部分,例如图 10 中所示的 1060,其(通过形成双 z 转换)起到连接由覆盖层 1324 和 1350 限定的射流网的跨接部分的作用。有利地,使用这种“跨接”覆盖层允许具有形成图案的电极(以及在电极上可选的形成图案的结合试剂)的覆盖层 1350 只比形成图案部件略大。此布置降低了形成图案的部件的成本。作为另一种选择,可以省略跨接覆盖层和相关的双 z 转换,并且覆盖层 1324 和 1350 可以与单个邻近覆盖层结合。可选地,包含干燥试剂丸的丸区域位于覆盖层 1332 上的区域,这些区域通过衬垫 1330 内的开口 1345 和 1346 暴露在外,以便在通过丸区域以进入检测腔室 945 和 946 的液体中重新构成这些试剂。覆盖层 1321 密封空气腔室 / 捕集器 976 以及包括双 z 转换连接部分 1070 和 1071 的导管部分顶侧。覆盖层 1320 密封试样引入端口 921 和试剂引入端口 922。

[0242] 在图 11 和 13 所示的优选实施例中,盒主体进一步包括通电区域 995 和 996,其与衬垫层 1331 内的切割部分 1370 和 1371 一起,允许用电极触点 997、998 进行电接触。通电区域是盒主体内的切割部分或孔眼,其构造和布置得与电极触点对齐。

[0243] 盒主体 1100 的至少部分适于和构造为光学检测窗口,并且布置为与电极光学对准,从而允许光学检测由电极阵列产生的发光。在一个特殊优选实施例中,盒主体和 / 或覆盖层由透明材料制成。使用光学透明材料具有进一步的优势:能够使用光学检测器,例如位于盒读出器内的检测器,来检测导管内液体的存在。这些光学检测器可用来确保盒正常运行,并且为控制盒内流体移动的控制系統提供反馈。作为另一种选择,盒主体和 / 或覆盖层可以包含光学检测窗口,其正确位于需要光学检测流体存在和 / 或成分的位置上(例如,检测光源的反射比 / 透射比)。图 12 说明了盒 900 内的光学检测点 1210-1217 的优选位置。

[0244] 图 14a 是盒 1400 的射流部件的示意图,是本发明盒的另一个优选实施例。图 14b 和 14c 显示了盒 1400 的一个优选设计的分解图。图 18 是此设计的射流网的三维表示。盒 1400 包括试样腔室 1420、第一和第二试剂腔室 1425 和 1426、检测腔室 1445 和 1446、废料腔室 1430 和 1431。试样腔室 1420 最好适于容纳液体试样,并且通过通气导管 1475 连接到通气口 1480 上,并通过试样导管 1415(包括试样导管分支 1440 和 1441,其从分配点 1540 上分出来)连接到检测腔室 1445 和 1446 上。通气导管最好具有蜿蜒形状,以增加其长度,并防止试样腔室 1420 中气泡的流体流回入通气口 1480。试样导管 1415 最好包括在连接试样腔室 1420 的导管附近的 z 转换,用于防止试样从试样腔室 1420 过早泄漏。试样腔室 1420 也具有试样引入端口 1416 以及用于密封端口的盖子插入物 1414。可选地,试样导管分支 1440 和 / 或 1441 包括试剂丸区域。

[0245] 试剂腔室 1425 和 1426 最好适于容纳试剂安瓿。试剂腔室 1425 通过试剂通气导管连接到通气口 1450 上,并且通过试剂导管 1470 连接到试样导管 1415 上。试剂导管 1470 通过通气导管 1482 进一步连接到通气口 1481 上,其可以用来将空气引入试剂导管 1470 以及下游导管上,例如试样导管分支 1440 和 1441。有利地,试剂导管 1470 在通气导管 1482 和试样导管 1415 之间具有延伸部分,其可以用作液体试剂限定量的集结地。此延伸部分最好也包括试剂丸区域,其用于将干燥试剂引入试剂腔室 1425 内容纳的液体试剂中。试剂腔室 1426 通过通气导管连接到通气口 1451 上,并且通过试剂导管 1427 连接到试样导管 1415 上(首先就在试样导管 1415 下游与试剂导管 1470 相交)。试剂导管 1427 和 1470 最好在靠近导管与其相应试剂腔室的连接处包括 z 转换,从而防止试剂从腔室中过早泄漏。检测腔室 1445 和 1446 最好包括固定的所关心的分析物结合试剂,最好是结合试剂阵列,最好是支撑在电极阵列上的用来进行 ECL 测量的结合试剂阵列,例如以上所描述的本发明的电极阵列。检测腔室 1445 和 1446 连接到试样导管分支 1440 和 1441 以及废料导管 1460 和 1461 上。废料腔室 1430 和 1431 连接到废料导管 1460 和 1461 上,并通过通气导管连接到通气口 1452 和 1453 上。可选地,可以省略一个检测腔室(以及相关的射流和废料腔室)。

[0246] 盒 1400 适合于进行一个和两个步骤的冲洗检定(该检定涉及:在进行冲洗步骤前,用一个或两个试样/试剂来处理检测腔室)。一个步骤冲洗检定的优选实施例包括:i) 通过试样导管分支 1440 和 / 或 1441,将试样从试样腔室 1420 引入检测腔室 1445 和 / 或 1446 内(可选地,引入检测腔室的试样包括重新构成的试剂,例如在丸区域获得的标记的结合试剂和 / 或控制 / 校准试剂,其包含在试样导管分支 1440 和 / 或 1441 内),ii) 利用包含在试剂腔室 1426 内的冲洗试剂(试剂最好包括电致化学发光共反应物,并且为 ECL 检定提供适合的环境)冲洗检测腔室,以及 iii) 询问检测腔室的内容物(最好通过进行 ECL 测量)。对于进行这种一个步骤规程的盒,可以省略试剂腔室 1425(其中,通气口 1481 可以直接连接到试剂导管 1427 或试样导管 1415 上)。两个步骤冲洗检定的优选实施例包括:i) 通过试样导管分支 1440 和 / 或 1441,将试样从试样腔室 1420 引入至检测腔室 1445 和 / 或 1446(可选地,引入检测腔室的试样包括重新构成的试剂,例如阻断剂、缓冲剂、在丸区域获得的标记的结合试剂和 / 或控制 / 校准试剂,其包含在试样导管分支 1440 和 / 或 1441 内);ii) 将液体试剂从试剂腔室 1425 引入至检测腔室 1445 和 / 或 1446(可选地,引入检测腔室的试剂包括重新构成的试剂,例如阻断剂、缓冲剂、在丸区域获得的标记的结合试剂和 / 或控制 / 校准试剂,其包含在试剂导管 1470 内);iii) 用包含在试剂腔室 1426 内的

冲洗试剂冲洗检测腔室（试剂最好包括电致化学发光共反应物，并且为 ECL 检定提供适合的环境）；以及 iv）询问检测腔室的内容物（最好通过进行 ECL 测量）。可选地，冲洗步骤包括在步骤（i）和（ii）之间。有利地，在结合检定中使用两个步骤的形式，允许分析物或试样中的其他成分结合到检测腔室内的固定结合试剂上，并且在引入标记的检测试剂（例如，用于夹合结合检定的标记的结合试剂或用于竞争检定的标记的分析物）前，从检测腔室冲洗出来；在两个步骤内进行检定有利于竞争检定和经受大试样基体影响或钩形影响的检定。一些检定可能不需要冲洗步骤（例如，可以通过将附加的 ECL 共反应物结合到试样上来实现非冲洗 ECL 检定）；对于进行这种非冲洗检定的盒（以一个或两个步骤的形式），可以省略试剂腔室 1426。

[0247] 如在图 14b 中所示的，盒 1400 的优选实施例使用层状盒设计，该设计使用了两部分盒主体（1410 和 1411）以及覆盖层 1401、1402、1403 和 1407。为了允许充足的试样量和 / 或试剂量，盒主体具有较厚的部分，其包括部分限定了试样、试剂和废料腔室的特征（通道、凹槽、容器、隔室等）。盒的其余部分最好薄得多，以便将盒重量、体积和材料成本最小化。两个部分的盒设计不是必要的，但是是有利的：通过允许盒主体较厚区域中空，从而减少生产盒所需的材料量，减少在从注模冲模喷出前冷却部件所需的时间，以及减少在从模子释放后部件的变形，通过低成本注模技术来生产盒。在此中空设计中，通过包含在主体部件 1410 和 / 或 1411 内的管子（例如，参看图 14b 的管子 1439）提供盒主体的通孔。这些管子可以与其他主体部件内的管子或孔匹配，从而形成穿过主体的通孔。可以通过多种方法来实现此匹配，包括本领域已知的管子匹配方法。优选技术包括：塑料焊接技术和 / 或使用压配合（最好通过具有在其端部从 $d_{\max}$ 减小至 $d_{\min}$ 的外直径的变细管子和具有在 $d_{\max}$ 和 $d_{\min}$ 之间的内直径的管子相匹配）。在可替代实施例中，使用一个部分的盒主体。

[0248] 至少部分试样、试剂和通气导管由下部盒主体部分 1410 上的密封覆盖层 1403 所形成。通过将覆盖层 1407（具有形成图案的导电层 1423（其形成与图 9 中显示的电极阵列 963 类似的形成图案的电极阵列）以及形成图案的电介质上层 1421、1422）经过中间衬垫层 1405（最好由双面胶制成）密封到下部盒主体部分 1410 上，形成检测腔室 1445 和 1446、部分试样导管分支 1440 和 1441、部分细长试剂导管 1470。检测腔室的深度、长度和宽度通过衬垫层内的切割部分 1447 和 1448 所限定。衬垫层内的切割部分 1406、1408、1412、1413 将电介质层 1421 和 1422 的区域暴露在试样导管分支 1440 和 1441 以及细长试剂导管 1470 上。有利地，包含在这些试剂内的干燥试剂丸位于这些区域上。丸位置的这种选择允许检测腔室内的干燥试剂丸和 / 或固定的试剂在单个基底上分配。如在图 14 中所示，试样导管分支 1440 和 1441 最好具有邻近和 / 或充分平行于检测腔室 1445 和 1446 的部分以及 U 形回转部分，从而允许连接到检测腔室上。此布置提供了导管长度，其足够长从而允许将试样引入到导管内，并且在将试样引入检测腔室前将试样与导管内的丸进行混合。无需增加盒长度就可以实现这些长度。有利地，此布置也允许使用形成图案的电极层来进行以上所描述的试样导管内流体的电容或电导测量。类似的，细长试剂导管 1470 具有进入和返回部分，其通过 U 形回转部分连接，其平行于检测腔室 1445 和 1446。下部盒主体部件 1410 进一步包括通电区域 1432 和 1433，其与衬垫层 1405 内的切割部分 1417 和 1418 一起允许与导电层 1423 进行电接触。

[0249] 覆盖层 1402 与下部盒主体部件 1410 匹配，从而限定导管部分 1805（在图 18a 中

易见),其(通过连接两个 z 转换)起到连接由覆盖层 1403 和 1407 所限定的射流网的跨接部分的作用。可选地,可以使用形成在覆盖层 1402 上的丸区域将干燥试剂引入试样或液体试剂上,覆盖层 1402 位于包含在试样或试剂导管内的跨接部分的表面上。覆盖层 1401 与上部盒主体部件 1411 匹配,并且密封试剂腔室 1425 和 1426,以防止流体从腔室内的安瓿内释放。覆盖层 1401 同时密封顶侧导管部分,其包括双 z 转换,连接例如图 18a 中易见的部分 1810 和 1815 之类的部分。

[0250] 图 15a 显示了上部主体部件 1411 的顶视图。图 16a 和 16b 显示了下部主体部件 1410 的顶视图和底视图。如在图 15a 中所示,上部盒部件 1411 最好包括试剂腔室 1425、1426,其构造为容纳试剂安瓿。过滤器 1515、1516 最好整体模制在上部盒部件内,从而确保来自破碎玻璃安瓿的几乎所有玻璃碎片不进入射流网内以及可能地防碍 / 阻碍流体流动。作为另一种选择,过滤器可以是分立部件,其在制造 / 装配过程期间包括入试样和 / 或检定试剂腔室内;例如最好可以按入到位的插入物(例如,参考图 20 内的插入物 2020 和 2021)。

[0251] 两件盒设计同时有利于简化废料腔室内的额外防泡沫措施的使用。垂直网或局部壁可以包含在废料腔室 1610、1611 的上部内,废料腔室位于上部盒部件 1600 内,这是上部盒部件 1411 的另一个实施例。防泡沫网最好位于废料腔室出口和废料腔室输入之间。防泡沫网的高度最好延伸至废料腔室上部的全部深度,但也可以小于全部深度。作为另一种选择,防泡沫网可以延伸超过废料腔室上部的深度,从而突出进入废料腔室下部。最好选定防泡沫网高度,从而实现最佳的防泡沫。

[0252] 如以上所讨论的,最好布置废料腔室的入口导管,以便以这样的方式进入废料腔室:其允许废料流体沿废料腔室壁流下,从而最小化或消除泡沫。如图 16a 中所说明的,入口导管 1615、1616 与废料腔室的一个壁相交。此外,构造并且布置出口,从而在预期流体水平以上的点处到达废料腔室。在废料腔室顶部或靠近废料腔室顶部定位废料腔室出口,同时有助于确保可能在腔室内出现的任何泡沫不会导致流体进入通气管路并从而可能污染盒读出器仪器。

[0253] 图 32 显示了盒 3200 的射流网的示意图,这是本发明的一个优选实施例,构造其从基体内提取分析物,最好从涂抹器棒中提取,最优选从药签中提取。图 33 显示了盒 3200 的优选设计的分解图。盒 3200 说明了本发明的盒的两个优选特征:用于从基体中提取分析物的试样腔室以及使用“反流”冲洗。盒 3200 具有连接到通气口 3212 的试剂腔室 3210 以及提取试剂导管 3214(最好包括 z 转换)。试剂腔室 3210 容纳适合于提取分析物的液体试剂。试剂腔室最好容纳核酸安瓿,更优选是酸(最好是乙酸)的安瓿,以及容纳安瓿外的干硝酸盐,使得安瓿破裂时导致亚硝酸的形成。对于从革兰氏阳性细菌中提取细胞壁抗原来讲,亚硝酸是尤其有用的提取试剂,并且也可以用于从包含例如上呼吸道试样的其他粘液组织提取标记(例如,参看序列号为 60/436,591 的美国临时申请中披露的提取方法和试剂,该申请于 2002 年 12 月 26 日提交,标题为“Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction”,其披露的内容在此作为参考)。

[0254] 盒 3200 具有细长的试样腔室 3220(构造该试样腔室,以提取试样,例如以上结合图 28-30 所描述的那些),其连接到提取试剂导管 3214 和试样导管 3224 上,以便允许提取试剂流经试样(最好通过药签头 3205)。如在图 33 中所示,试样腔室 3220 最好沿其伸长方向形成一角度或弯曲,以便有助于折断插入试样隔室内的有划痕药签。试样导管 3224 连

接到气泡捕集器 3226 上(最好连接到气泡捕集器通气口 3266 上),以便将空气从提取试样和废料腔室 3228(其最好连接到废料通气口 3262 上)中去除。进一步在下游,试样导管 3224 连接到检测腔室 3230 上。试样导管 3224 包括丸区域 3225,其可容纳标记的结合试剂(例如在夹层免疫测定中用作检测试剂的标记的抗体)和/或用于中和试样中酸性提取试剂(例如亚硝酸)的中和试剂(例如 pH 缓冲剂成分,例如 Tris、Hepes、磷酸盐等)。

[0255] 检测腔室 3230 最好包括所关心的分析物的固定的结合试剂,最好是结合试剂阵列,最好是支撑在用于进行 ECL 测量的电极阵列上的结合试剂阵列,如以上对其他盒实施例的描述。在特殊优选实施例中,结合试剂是针对有机体的记号的抗体(最好包括至少一个革兰氏阳性细菌、最优选包括链球菌群),其可存在于包含粘液的试样中,例如上呼吸道试样(例如,参看序列号为 60/436,591 的美国临时申请中披露的有机体,该申请于 2002 年 12 月 26 日提交,标题为“Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction”,其披露的内容在此作为参考)。检测腔室 3230 通过冲洗试剂导管 3242(其最好包括 z 转换)连接到冲洗试剂腔室 3240 上。通气口 3244 在检测腔室 3230 和冲洗腔室 3240 之间沿冲洗试剂导管 3242 布置。冲洗试剂腔室 3240 同时连接到通气口 3241。冲洗试剂腔室 3240 包括液体冲洗试剂,最好在安瓿内。液体冲洗试剂最好包括 ECL 共反应物,并且为 ECL 检定提供合适的化学环境。

[0256] 盒 3200 的射流布置允许提取的试样通过丸区域 3225 向前流动进入检测腔室 3230,并允许试样反向流动进入废料腔室 3228,而冲洗试剂腔室 3240 内的冲洗试剂进入检测腔室 3230。

[0257] 盒 3200 也具有可选的控制检测腔室 3250,其最好构造得类似于检测腔室 3230。盒的射流布置允许冲洗试剂腔室 3240 内的冲洗试剂通过丸区域 3252 到达检测腔室 3250。丸区域 3252 最好包括与丸区域 3225 相同的结合试剂,但同时包括控制试剂(最好是检测腔室 3230 内测量的预定量的分析物),以便与冲洗试剂重新的构成形成控制试样。射流布置进一步允许控制试样向前流动进入废料腔室 3254(其最好连接到废料通气口 3264),并且冲洗试剂腔室 3240 的冲洗试剂顺流进入检测腔室 3250 内。

[0258] 如在图 32 和 33 中所示的,盒 3200 最好使用多个与盒 900 和/或 1400 的优选实施例相同的设计特征,例如使用 z 转换、层状结构、电极阵列、跨接部分等。如图 33 所示,盒 3300 最好是具有两个部分的设计。有利地,此设计允许试样腔室从两个部分构造而成,并且简化了弯曲/带角度的细长腔室的制造。如图 33 所示,盒 3200 也可以包括条形码 3295 或其他识别特征,例如其能够识别在盒上进行的检定组、盒批次、制造时间、产品有效期、盒特殊校准数据、试样源等。

[0259] 射流部件最好适于并构造为形成射流系统,可以通过盒读出器仪器可选择地控制该系统。图 23 中示意性地描述了盒读出器 2300,其最好包括进行预定检定的不同子系统。所显示的盒读出器容纳了可以单独提供的盒 2390。如所描述的,盒读出器最好包括盒处理器 2315、射流处理器 2340 以及检定电子子系统 2330。这些子系统最好一起由电子控制系统 2310 来控制,电子控制系统通常负责命令盒处理器子系统加载和定位读出器内的盒、控制/协调流体通过射流网的引入/移动、以及指导检定电子器件实现检定测量。盒读出器最好封装成单个独立的单元。在使用基于发光的检定的优选实施例中,在整个盒读出器壳体内包括了更小的不透光区域。这允许在不透光封装内实现基于发光的检定,从而确保读

数不受环境照明的影响。电子部件和其他生热部件最好位于不透光封装之外。

[0260] 盒处理器子系统最好包括马达,从而牵引盒进入盒壳体内,并且将盒有选择地定位在盒读出器内;例如,在传感器/检测器 2335 下方定位盒。在一个优选实施例中,盒读出器壳体内部的盒回缩可以机械连接到盒读出器内的一个或多个机构上,用于同步/协调所连接机构的操作。例如,盒的回缩可以机械连接到:在盒进入腔室后,将通至不透光封装的门 2325 关闭的机构;检定电极子系统(以下将更详细地描述),以允许盒读出器的电触点 2330 与盒电触点接合,即,放置为与电极阵列的电极触点电接触;射流处理器子系统(以下将更详细地描述)的射流集管 2340,以与盒流体端口接合,即放置于与盒射流端口射流连通(例如,在盒的射流端口和射流集管之间建立压力密封);和/或流体处理器子系统的试剂模块折断机构 2350,以允许例如安瓿的试剂模块在盒回缩/定位步骤期间破裂。

[0261] 在某些实施例中,测量步骤可包括从每一个读出腔室分别读出信号。虽然可以通过使用单个合适的检测器和相对于单个检测器最佳定位盒读出腔室来实现此步骤,也可以通过相对于单个检测器重新定位理想的读出腔室或相对于理想的读出腔室重新定位检测器,来进行成功的测量/检测。对于这种实施例,盒处理器子系统可以包括独立马达,以允许定位盒和/或检测器。在特殊优选实施例中,盒处理器子系统适于并构造为精确定位盒或检测器或这两者,使得检测器与进行测量的精确位置对齐;例如,目前受激励以产生 ECL 的工作电极。

[0262] 在优选实施例中,在盒读出器上/盒读出器内包括有条形码读出器 2365,从而自动扫描盒上的识别码/标记 2370;例如,当其被牵引进入读出器时。标记可以包含关于待进行的特定检定的编码信息、校准参数和/或进行检定所需要的任意其他信息。此外,优选实施例可以包括位于盒读出器内的加热器,从而在处理前将盒加热到预定温度,例如 37 摄氏度。

[0263] 读出器最好不接触到盒内所包含的液体。通过使用施加在通气口的气压来驱动盒内的流体,可以实现此特征。射流处理器子系统最好包括泵 2345(最好是活塞泵),从而有选择地将正和/或负压(例如施加真空)施加到盒射流部件的一个或多个上,以便有选择地控制盒以及其各种射流部件内和流经盒以及其各种的射流部件的流体运动。射流处理器子系统最好适于并构造为在一个或多个射流控制点上与盒射流接合;例如正控制端口、通气口等,并且包括用于提供这些射流接合的射流连接器。最好通过包括位于盒读出器内的射流集管 2340,来实现选择性地将压力施加到盒的射流部件上,从而简化并且增强射流接合功能,并使射流系统的数量和复杂性最小化。有利地,射流集管 2340 适于和构造为有助于单个泵的使用;即,在射流集管 2340 内可以包括控制阀 2342,从而选择性地控制盒的各种射流部件内和流经盒的各种射流部件的流体运动。射流处理器最好包括压力传感器,从而有助于精确的/可重复的运动和/或流体网内的定位流体。射流连接器最好包括防止浮质塞或气体选择膜(即,选择性地允许气体通过但防止液体通过的材料),从而防止盒内的液体对读出器射流污染。如果受到液体污染,包含这些塞子或膜的部件最好易于去除和替换。防止浮质塞通常用于吸液管尖端,从而防止污染吸移管管理器,并且包括当干燥时允许气体通过,但当与液体接触时膨胀并且将通道密封的材料(例如,注入或涂覆了纤维素羧甲醚的过滤器材料)。

[0264] 射流处理器子系统最好使用流体传感器(不能从图 23 中直接看出。图 12 和 17

说明了与盒 / 射流网相对布置的可替代的流体传感器设计), 例如在射流网内预定位置处定位的反射光传感器; 根据这些优选实施例, 定位流体传感器, 使其与位于盒主体上的标记的光检测点对齐。可以使用传感器信号数据来提供流体定位信息, 其可以用来控制泵的运转参数, 例如泵速、特定泵运转的方向和持续时间。除了精确控制盒内和流经盒的流体运动, 通过例如在前后混合运动期间, 限定柱流体前缘的运动限度, 和 / 或通过测量流体的光学特性, 例如指示混合操作状态的吸收率或光散射, 流体传感器可以用来控制流体的混合 (例如在培育期间, 以及在冲洗和读出的循环期间, 从读出腔室清空试样)。流体传感器也可以用来对试样进行粘性测量。在一个实施例中, 通过以预定速度或在设计为实现预定压力梯度的条件下操作泵, 指引读出器泵移动试样的流体前缘从一个光学传感器位置穿过射流导管至另一个光学传感器位置。在两个位置之间移动流体所需要的时间指示了粘性。这种粘性测量可选择地用来测量血液或血浆试样的凝结时间 (例如全血凝固时间、凝血酶时间、凝血素时间、局部促凝血酶原激酶时间和 / 或活性凝固时间)。这种方法可以进一步包括: 在进行计时步骤之前, 引入一个或多个凝结剂 (例如, 通过在包含这些试剂的干燥试剂上通过试样)。测量凝血酶时间的合适试剂可包括凝血酶。测量凝血素时间的合适试剂可包括促凝血酶原激酶和 / 或钙。测量局部促凝血酶原激酶时间的合适试剂可包括脑磷脂和负电性物质 (最好为硅藻土、瓷土、玻璃粒和 / 或鞣花酸)。测量活性凝固时间的合适试剂可包括负电性物质, 例如硅藻土、瓷土、玻璃粒和 / 或鞣花酸。

[0265] 虽然使用光学传感器来监控流体流动是有利的, 但这不是必需的。在某些可替代实施例中, 通过在预定时间内、以预定速度操作泵, 或在确定导致流体柱预定运动的条件下 (例如通过校准泵) 来操作泵, 可以进行流体运动操作。

[0266] 检定电子子系统最好包括电触点、传感器和电子电路。电触点 2330 最好适于和构造为置于与电极阵列电接触。在一个优选实施例中, 盒读出器的电子电路可以包括: 模拟转换和互阻抗放大电路, 从而访问特定的电极对 (即以上详细讨论的成对触发), 并且给该电极对形成的电路施加预定的电压波形。出于诊断目的, 可以选择性地测量实际输出电压和电流。最好电子电路也能施加 AC 波形 (例如 500Hz 或更低), 以进行电容或导电测量 (如以上所讨论的)。此外, 可以构造电子电路, 来产生 20kHz 信号, 其适合于例如血液试样的血细胞比容测量。

[0267] 在盒读出器的一个特殊优选实施例中, 构造该盒读出器以进行基于发光的检定, 盒读出器可以使用光学检测器 2335, 例如光电二极管 (最优选是冷却的光电二极管)、光电倍增管、CCD 检测器、CMOS 检测器等, 以检测和 / 或测量从读出腔室发射的光 / 发光。如果使用冷却的光电二极管, 热电致冷器和温度传感器可以与光电二极管封装件自身成为一体, 通过电子控制系统提供选择性控制。

[0268] 最好利用计算机控制系统 2310 来选择性地控制基于盒的系统的运行。计算机控制系统可以完全集成到盒读出器内, 与外部容纳系统内的盒读出器分离, 和 / 或与盒读出器部分成一体及部分分离。例如, 构造盒读出器, 使其具有外部连通端口 (例如 RS-232、并口、USB、IEEE1394 等), 用于连接到普通用途的电脑系统 (图中未示), 最好对该电脑进行编程, 从而控制盒读出器和 / 或其子系统。在一个优选实施例中, 可以使用单个内嵌的微处理器来控制电子器件, 并且协调盒的运行。此外, 微处理器也可以支持嵌入的操作界面、连通性和数据管理操作。嵌入的操作界面最好能够利用集成的显示器 2360 和 / 或集成的

数据输入装置 2355(例如小键盘)。计算机控制系统最好也可以包括非易失存储器,用于存储盒结果和仪器构造参数。

[0269] 图 34 显示了读出器 2300 的一个优选设计的剖视分解图,并且同时显示了盒抽屉 2386(最好包括集成的盒加热器),其位于线性导向器 2384 上且通过马达 2380 驱动,以将盒移入和移出读出器。图 34 也显示了流体传感器阵列 2388(容纳传感器,最好是光学传感器),用于检测盒内选定位置的流体,并显示了将盒与机架 2383 结合在一起的马达 2382,机架支撑电连接器(此图中未示出),射流连接器(此图中未示出)、安瓿破裂机构 2350 和光检测器 2335。

[0270] 图 24 说明了盒读出器射流处理子系统内阀的优选构造,构造其与图 25 的射流图内显示的(连同盒读出器流体检测传感器 1-15 的优选定位)盒 2500(类似于盒 1400)一起使用。子系统包括泵系统,其包括连接到泵集管上的气动泵(最好是气动活塞)。集管连接到控制管路(包括控制阀 2412A 和 2412B)上,控制管路将泵连接到盒上选定的通气口(最好为废料腔室 A 通气口 2512A 和废料腔室 B 通气口 2512B),并且允许泵用来将盒内的流体移开或朝着选定通气口移动。集管同时连接到泵通气管路(包括泵通气管路阀 2492)上,用于为泵集管通气。控制阀具有密封控制管路和相关盒通气口的关闭位置、将泵连接到盒通气口的开启位置、以及可选的将盒通气口敞开到环境压力的通气位置。泵通气管路阀具有密封泵通气口的关闭位置,和将泵集管暴露在环境压力下、并且释放泵集管内的压力/真空的开启位置。射流处理子系统进一步包括通气管路(包括通气阀 2412、2422、2431A 和 2432B),其允许盒上的通气口(分别为试样腔室通气口 2512、空气端口 2522、试剂腔室 A 通气口 2532A 和试剂腔室 B 通气口 2532B)(最好是除了废料盒端口的其他盒通气口)的通气。通气阀具有密封相关盒通气口的关闭位置和将通气口暴露在环境压力下的开启位置。射流处理子系统也可以包括连接到泵集管的用于检测集管内压力的压力传感器。在盒的射流控制期间,最好监控集管内的压力,从而确保其落入特定操作所预期的压力范围内,并且确认射流处理系统正常运行。设计图 24 内显示的特殊优选的阀构造,从而主要通过吸引其朝向阀腔室来移动流体。本领域的普通技术人员容易理解其他阀构造,例如主要通过正压驱动流体的构造,并且可包括允许除了废料腔室以外的腔室连接到泵上和/或允许废料腔室直接排放到环境的阀。

[0271] 参考图 24 到 26,将描述使用本发明优选盒的检定性能。将利用两个步骤多路结合检定来描述此典型方法,该检定使用抗体作为结合试剂,使用 ECL 作为检测方法,然而,本领域的普通技术人员可以容易地明白:描述的射流操作可用于多种不同的检定方式(例如使用其他类结合试剂的结合检定、酶的检定等)和可使用多种不同的检测技术。这也是明显的:以下讨论的操作次序可以根据特殊盒的构造中的不同以及待进行的特殊检定中的不同而改变。

[0272] 在操作期间,可以使用泵通气管路阀启动和停止系统加压,以进行精确的流体控制;当泵出口开启时,系统迅速恢复至环境压力。典型的流体牵引操作,即流体网内和贯穿流体网的流体的发送,包括关闭泵通气阀以及开启 i) 一个或多个(最好是一个)盒通气阀,如试样、空气、试剂腔室 A 和/或试剂腔室 B 的通气阀,以及 ii) 一个或多个(最好是一个)控制阀,如废料腔室 A 或废料腔室 B 的控制阀。因此,当包含路径的流体通道在一端向空气通气、而另一端受到压力或真空时,流体柱将沿着穿过盒内流体网的路径移动。

[0273] 使用者选择适当的盒,以进行理想的测量,并且将试样引入至盒的试样引入端口,并且最好用闭合物密封试样引入端口。盒插入盒读出器内。盒最好包括确保以正确方位插入盒的特征;例如通过包括识别记号,以显示其应该定位在托盘上的哪个方向,和/或包括引导使用者以正确方位将其定位的机械特征。在使用者成功准备和插入盒后,当接收到使用者应该开始读出循环的指示,通过盒读出器进行读出/处理盒(作为另一种选择,当确认正确准备的盒正确插入了盒读出器内时,读出器可以自动开始操作)。随后盒的读取最好自动进行;例如盒读出器的电子控制系统(计算机控制系统等)自动处理和读取盒。

[0274] 现在将对由盒读出器执行的自动操作顺序进行描述。盒最好包括如条形码那样的机器可读的标志,其可由盒读出器检测并处理。例如,对机器可读的标志进行处理,这可允许盒读出器确认已经检测到了有效、可读的条形码,并且随后确定当前读取循环的可操作参数;即确定待进行的检定/测试组,提取任何相关的仪器构造参数并且校验失效日期。在某些优选实施例中,盒读出器可以提示使用者其所需要的任何数据;例如:操作员 ID、试样或病人 ID 等。此外,如果盒能够运行测试的组,使用者能够选定应进行组内哪个测试。

[0275] 读出器最好具有盒处理子系统,其与盒机械接合并且将其移入适当位置/与适当位置对齐。此过程最好包括:将盒定位在不透光的封装内。读出器同时与盒进行适当的射流和/或电子连接,并且可选地打破或刺穿盒试剂腔室内存在的任何试剂模块(例如试剂安瓿)。如以上所讨论的,在一个优选实施例中,盒处理器的运动将物理连接到射流和电子处理器(可选地,以及连接到试剂模块释放机构)上,这样当将盒定位在不透光封装内时,电触点和射流集管在其各自接合点上与盒接合(可选地,试剂模块释放机构从任意试剂模块内释放试剂)。接下来,在需要或优选的场合,电子控制系统开始操作加热器,以便使盒升到适当的预定温度,并且将盒保持在该目标温度下。在某些优选实施例中,温度调节可以由微处理器控制,其使用比例导数控制来控制保持目标温度的加热器;最好使用适当的算法。

[0276] 一旦盒在目标温度下保持了预定时间后,流体处理器可以开始处理盒,以进行读取;即装配检定。参考图 26,以说明在两步步骤检定形式期间的盒读出器的中间状态,以及流体在盒 2500 的流体网内的位置。如在图 26 中所展现的,说明了盒 2500 的开始状态(画面 2601),并且描述了射流网内构成流体的位置。检定集合最好包括:测量特定量的试样流体,重新构成试样流体内的干燥的试剂以及在检测腔室内培养试样流体。根据构成流体设定的理想的流体流动路径,以指定顺序开启预定的阀。

[0277] 根据存在两个读出腔室并且用于测试试样的本实施例,将提取两段同等长度的试样流体(即,柱);试样柱的长度由读出腔室的容积所确定。通过在两个试样柱之间引入空气柱,来确定试样柱之间的界线。据此,开启试样腔室通气阀 2412 和废料腔室通气阀 2442A,并且关闭泵出口。随后启动泵,以从试样腔室 2510 吸引/提取试样(最好克服由 z 转换提供的毛细管突变, z 转换用来防止试样从试样腔室泄漏)进入试样导管分支 2515A。在这个和其他抽吸步骤中,压力传感器(图中未示)最好检测由操作产生的压力,并且提供泵正常吸引/分配流体的确认信号。当在传感器 3 上检测到流体时(参看图 26, 2602),开启泵通气阀,并且停止泵马达。随后关闭试样腔室通气阀 2412 和废料腔室通气阀 2442A。类似的,通过开启试样腔室通气阀 2412 和废料腔室 B 通气阀 2442B 来操作泵,将试样吸引进入试样导管分支 2515B(参见图 26,画面 2603)。通过开启空气通气阀 2422 以及废料腔室 A 和 B 通气阀 2442A-B 来操作泵,所限定的试样流体柱被吸引进入试样导管分支(参见

图 26,画面 2604)。在这个和随后的步骤中,通过保持开启两个废料腔室通气阀,两个柱可以同时移动经过试样导管分支 2515A 和 B,或通过一次开启一个阀,两个柱顺序移动通过这些分支。

[0278] 试样导管分支最好包括干燥试剂丸(最好包括一个或多个从阻断剂、pH 缓冲剂、盐、标记的结合试剂等选定的试剂)。一个或多个导管分支也可以包括掺加的分析物,用于掺加回收控制。为了重新构成干燥的试剂,通过开启空气通气阀 2422 和废料腔室通气阀 2442A 和 / 或 B,并且通过操作泵,从而交替在废料腔室出口施加正负压力(图 26,画面 2605-2606),两个试样流体柱以预定的次数来回移动穿越丸区域。两个试样流体柱可以同时来回移动或可以连续实现两个柱的混合。试样流体穿过丸区域循环的重复数量取决于许多因素,这些因素包括但不限于:试剂干燥的试剂丸的尺寸 / 体积、试剂丸的成分、在试剂沉积 / 丸形成时使用的干燥方法等。根据优选实施例,需要由流体处理器子系统进行的重复数量可以取决于盒,并且可以由盒读出器根据固定 / 包括在盒上的机器可读的标志里的编码的信息来自动确认。可以通过经验结果来预先确定重复数量,但也可以通过使用一个或多个传感器就地确定重复数量,该传感器适于并构造为测量试剂和试样流体混合的程度;例如,使用光学传感器(透光率或反射比)、电传感器(阻抗、电导、电阻等)。

[0279] 在空气通气阀 2422 和废料腔室通气阀 2442A 开启的情况下,通过操作泵,直到在传感器 7 上检测到试样柱,以及在空气通气阀 2422 和废料腔室通气阀 2442B 开启的情况下,通过操作泵,直到在传感器 8 上检测到试样柱,将试样流体柱移入至它们的检测腔室 2550A 和 2550B 中(图 26,画面 2607-2608)。在检测腔室内培育试样柱,从而允许检测腔室内的试样成分(例如标记的结合试剂、分析物、控制分析物等)以及固定的结合试剂进行结合,从而在检测腔室内形成结合联合体。最好使用混合操作来提高这些结合反应的速率。最好通过在检测腔室内来回移动流体柱,通过类似于重新构成试剂丸的过程(可选地,使用传感器 1、2、11 和 12,以提供每一个方向上的停止点),来实现混合。重复预定次数的吸引和分配操作,或直到实现 / 检测到所需要的混合程度。在培育步骤完成后,使用空气和废料腔室通气阀将柱吸出检测腔室,并且吸入至废料腔室 2540A 和 B(图 26,画面 2609-2610)。

[0280] 检定过程最好(如所示)包括冲洗步骤,将试样和未结合的标记的试剂从检测腔室中去除。冲洗使用存储在试剂腔室 A 2530A 内的冲洗试剂(最好为缓冲的溶液、更优选为包含非离子表面活性剂,例如 Triton X-100,最优选包含 ECL 共反应物,例如 TPA 或 PIPES)。如果冲洗试剂位于试剂模块(最好是安瓿)内而此模块尚未开启,现在可以将其打开。可选地,剩余试样流体首先被导回至试样腔室内,从而防止污染冲洗试剂:在试剂腔室 A 通气阀 2432A 以及相应的废料腔室通气阀 2442A 或 B 开启的情况下,通过操作泵来施加负压(以及最好克服由试剂导管内的 z 转换提供的毛细管突变),首先将冲洗试剂从试剂腔室 A 2530A 吸入至试样导管分支中的一个;随后,在试样腔室通气阀开启的情况下,通过操作泵给废料腔室出口施加正压,将多余试样吸入至试样腔室(图 26,画面 2611-2612)。随后,在试剂腔室 A 通气阀 2432A 和废料腔室通气阀 2442A 和 / 或 2442B(同时或顺序)开启的情况下,通过操作泵,将冲洗试剂从试剂腔室 A 2530A 通过检测腔室 2550A 和 2550B 引至废料腔室 2540A 和 2540B 内(图 26,画面 2613-2616)。如所示的,在特殊优选实施例中,可以分段冲洗流体,即,通过一个或多个空气柱来分割。已经观察到:检测腔室内与空气交替的冲洗流体增加了清洁循环的效力。可以通过周期性地和临时性地开启空气通气阀 2422 并且同时

闭合试剂腔室 A 通气阀 2432A, 以便空气进入试样导管, 可以实现分段冲洗流体。这些操作的定时和持续时间将决定引入至分段冲洗流体柱内的空气柱尺寸和频率。

[0281] 在两个步骤形式中, 在一个额外的培育步骤中, 可以在检测腔室内培育一个或多个标记的检测试剂。最好利用包含在试剂腔室 B 2530B 内的检定稀释液, 通过重新构成包含检测试剂的干燥试剂丸, 来制备检测试剂溶液。如果检定稀释液位于试剂模块 (最好是安瓿) 内, 并且模块尚未破碎, 现在将其打碎。在开启试剂腔室 B 通气阀 2432B 时, 通过在废料腔室出口之一处吸气, 直到检定稀释液到达传感器 13, 检定稀释液被吸入细长的试剂导管 2535 内 (图 26, 画面 2617)。通过关闭试剂腔室 B 通气阀 2432B 并且开启空气通气阀 2422, 以及在废料腔室出口处继续吸气, 来制备限定量的检定稀释液; 通过在正负压力之间交替运转泵, 从而在干燥试剂丸上来回移动柱, 可促进干燥试剂在细长的试剂导管中重新构成 (图 26, 画面 2618-2619)。在类似于试样引入到检测腔室的过程中, 检测试剂溶液的柱: i) 在试样导管分支 2515A 和 B 之间分布, ii) 被引入至检测腔室 (2550A 和 B) 内, 在检测腔室内培育, 同时在腔室内前后移动柱, 以增加检测试剂结合到腔室内固定的检定成分上的速度, 以及 iii) 从检测腔室排出到废料腔室 2540A 和 B (图 26, 画面 2620-2622)。可选地, 在试剂腔室 B 通气阀 2432B 开启的情况下 (以及最好交替开启试剂腔室 B 通气阀 2432B 和空气通气阀 2422, 以便分段流体流), 通过在废料腔室出口处吸气, 从检测腔室 2550A 和 B 中冲洗残留的检测试剂溶液, 以及随后持续开启通气阀 2422, 以将多余检定稀释液引入至废料腔室中 (图 26, 画面 2623-2625)。作为另一种选择, 通过重复画面 2613-2616 中的步骤, 使用冲洗试剂来实现冲洗。

[0282] 为了给 ECL 测量提供适当环境, 用冲洗试剂 (最好是包含 ECL 共反应物的 ECL 读出缓冲剂) 填充检测腔室 2550A 和 2550B。据此, 在试剂 A 腔室通气阀 2432A 和废料腔室通气阀 2442A 和 / 或 2442B 开启的情况下, 通过操作泵, 从而将冲洗试剂吸入至试样导管分支 2515A 和 2515B 内, 冲洗试剂被引入至检测腔室内。在空气通气阀 2422 和废料腔室阀 2442A 和 / 或 2442B 开启的情况下, 操作泵将冲洗流体柱引入至检测腔室内 (图 16, 画面 2628-2631)。利用两个步骤的检定对上述检定进行了描述, 其使用两个结合步骤。类似的规程可用于具有一个结合步骤的一个步骤规程, 最好通过省略图 26 中的画面 2617-2625 内的步骤。在一个步骤的形式中, 所有用于检定的检测试剂最好在试样导管分支 2515A 和 2515B 内作为干燥试剂进行存储, 以便试样在通过分支期间, 重新构成检测试剂。可选地, 可以省略试剂腔室 B 2530B。

[0283] 最好通过激励 / 触发检测腔室内的工作电极来进行 ECL 测量。检测腔室的固定的结合试剂最好固定在一个或多个工作电极上, 更优选是在电极阵列上, 最优选是构造为成对方式触发的电极阵列上 (如以上所描述的)。将电势施加到工作电极上, 从而激励 ECL, 最好是以以上所讨论的成对触发方式。使用光学检测器检测到如此产生的光, 例如使用光电二极管等。在成对触发过程期间, 可以移动盒和 / 或光检测器, 以便将有源电极与光检测器对齐。可选地, 可以使用光检测器阵列或足够大的光检测器, 以便不需要移动盒和 / 或光检测器。可以使用预定的依赖于检定的转换参数, 从而从测量的 ECL 计数中得出浓度 / 结果; 例如从测试数据中凭实验得出或从理论预测 / 模型中计算得出。在特殊优选实施例中, 不同类型的盒可以具有不同电极图案, 但最好使用普通盒电极触点图案 / 区域。电极触点的一些可以不用于较低密度的盒形式。

[0284] 现在将描述操作的优选顺序,盒读出器的一个实施例可以使用该操作顺序来触发每一个读出位置。此讨论将利用光电二极管作为光学检测器,但应当理解:可以使用本领域已知的任何适当的光学检测器。光电二极管总成(或作为另一种选择,盒)被移入适当位置;如盒的电极阵列的适当侧。随后定位盒,使得待处理的第一读出位置处于与光电二极管对齐的预定位置(例如对齐定位),并与电极触点进行电接触。一旦进行电接触,读出器最好进行诊断测量,从而检测潜在的反常,其可能干扰电极阵列和/或其部件(导线、触点、电极等)的正常操作。检测到的反常包括制造缺陷、表面气泡等。可以通过给电极施加 500Hz 的交流电压或者非常低电压(例如小于 100mV)、弱电流(例如小于 1 μ A)的直流信号,并且测量表面电容,可以实现此诊断测量。随后利用适当的预定算法,可以来确定任何这种反常的存在和/或影响;例如将测量到的信号与固定的阈值进行比较等。如果检测到反常,盒读出器最好将记录此错误,并且据此进行;例如,如果只是特殊电极/电极对反常,盒读出器将掠过读取此位置,并且进行下一对和/或下一个操作。一旦确认了操作状态,通过施加电压波形来激发第一对电极的 ECL;同时开始来自光检测器的数据采集。在完成 ECL 测量后,重新对齐盒/光检测器,从而测量来自第二电极对的 ECL,并且重复 ECL 的感应/测量过程。为每一个待分析的电极对重复该循环。

[0285] 在某些优选实施例中,一旦采集到全套数据点,盒读出器能存储采集的数据,供以后恢复/检查,最好存储在机器可读的存储介质上,并通过进行必要的结束步骤(以下详述)来结束读取循环;或者,盒读出器可以后处理,最好实时进行,采集的数据,并且单独存储经过后处理的数据,或与原始采集的数据一起存储。因为检查原始数据经常是十分重要的(例如故障检修、诊断、数据提炼/过滤等),其中数据仅以经过后处理的形式存储,最好也存储用于转换数据的相应参数,以便在需要的时候,可以计算/确定出原始采集的数据。作为另一种选择,可以存储原始采集的数据以及经过后处理的数据。此外,原始采集的数据可以只实时进行部分预定的数据转换/分析操作,而通过存储,以便进行进一步的离线后处理,即非实时的;可以由盒读出器自身或其他装置进行后处理,例如常见的可编程计算机。

[0286] 在某些使用了 ECL 检测技术的优选实施例中,数据转换/分析操作可以包括一个或多个:背景减除;转换成 ECL 计数;ECL 计数转换成浓度;和/或对采集的数据进行质量检查。因为这是优选的:所得到的数据组仅代表 ECL 产生的光,所以使用背景减除来调整所测量的光,从而校正环境光或“背景”信号的影响。背景减除包括:从光电二极管信号中减去背景信号。

[0287] 最好使用预定的校准参数将 ECL 计数转换成浓度;校准参数可以取决于一个或多个因素,例如在盒内进行的特殊检定/检定形式,使用的检定试剂、使用的检定技术/方法、盒构造等。最好利用与盒相关的机器可读的标志来确认校准参数,例如固定到盒主体或记在盒主体上的条形码。应该认识到:可以以许多不同方法来产生 ECL 计数转换,包括:在采集所有数据后,转换所有采集的数据点;当采集每一个单个数据点时,进行转换;转换采集的数据点的组/多个组(例如,如果盒使用双读出腔室设计,在从每一个读出腔室采集到数据后,转换为 ECL 计数)等。

[0288] 在某些优选实施例中,进行质量检查是优选的,即评估采集的数据的质量。在使用 ECL 检测技术的场合,可以对采集的电压和电流数据进行有用的质量检查,包括:短路检

测;断路检测;电压跟踪确认;以及峰值电流检测。对于断路和短路检测,对每一个采集的数据点,最好进行输出电压和监控电流的积分,并且将这两个数值的比值(电波相对于施加电压)随后与阈值进行比较;这些阈值可以依赖于检定。非常低的相对电流的结果最好作为可能的断路情况的标记,非常高的相对电流的结果最好作为可能的短路的标记。可以以相关形式储存此信息,以便事后检查/考虑。作为另一种选择,如果检测到任一情形,可以认定结果为无效,而不再报告/计算这些测量的浓度。

[0289] 在使用电压跟踪质量评估的实例中,采集的电压波形的每一点最好对照其采样输出波形内的相应点。最好为仪器(即盒读出器/盒)限定预定的固定电压跟踪界限值,并且如果任意成对点相差大于预定数值(即, $|v(t)_{\text{defined}} - v(t)_{\text{measured}}| < \text{电压跟踪界限}$),结果最好标记成无效或认定为无效。如果标记了结果,此信息可以以相关形式存储,以便事后检查/考虑。如果结果认定为无效,最好不再报告/计算这些数据点的计算结果。

[0290] 一旦进行完所有必要的测量并且进行了所有必要的流体处理(例如,一旦完成最后测量,将通道和/或读出腔室内的所有剩余流体导入至废料腔室内),盒读出操作就结束了,盒可以从读出器中弹出。盒弹出操作最好与在读出器内插入盒的操作相反。特别地,盒读出器控制器确保泵出口开启而所有其他阀关闭。获得泵停止而所有电极触点处于三态的确认,并且如果盒加热器存在并使用了,关闭盒加热器。盒随后最好移回到读出器托盘上,而读出器托盘弹出,使得盒留在读出器外部,以备使用者使用,或可选地,自动系统从托盘去除盒并且正确处置盒。

[0291] 以下描述使用盒 3200 的检定性能的优选实施例,描述集中于不同于为盒 2500 所描述操作步骤的方面。操作描述包括使用盒读出器内的优选阀构造,其类似于图 24 中所描述的,除了构造其以便空气通气口 3244 和空气气泡捕集通气口 3266 可以连接到泵上、被密封或与大气相通。考虑到为盒 2500 所进行的操作描述,此优选实施例中用于移动流体的基本操作(即,在移动的流体一侧开启通气口至空气,并且将正压或负压施加到液体另一侧的通气口上)是明显的,不再总是描述。

[0292] 试样,最好为包括和/或收集于固体基体上的试样,插入试样腔室 3220 内,并且关闭盖子 3297。在特殊优选实施例中,在涂抹器棒(最好是药签)上收集试样(最优选是上呼吸道试样和/或猜想包含链球菌菌株的试样),涂抹器棒最好包括预定的弱点,而试样腔室如图 33 所显示的那样弯曲。在此特殊优选实施例中,棒插入弯曲腔室导致了杆的折断。随后最好去除杆部分,并且通过闭合盖子 3297 将头部分密封在腔室内。

[0293] 盒插入读出器内,并且与适当的电子和射流连接匹配,如以上对盒 2500 所进行的描述。盒最好容纳分别在试剂腔室 3210 和 3240 内的提取和冲洗缓冲器的安瓿,其最好现在破裂(或作为另一种选择,在其需要前的任何时间)。通过将通气口 3212 向空气开启、将通气口 3244 或 3264 向泵开启,并且操作泵以通过药签吸取提取试剂,将提取试剂(最好是亚硝酸,更优选是由试剂安瓿内的液体酸和腔室 3210 内的安瓿外存在的干硝酸盐制成的亚硝酸)从其施加腔室 3210 中吸取出来。为了去除试样内的气泡,操作泵直到在传感器位置 #1 处检测到来自药签的流体。通过将通气口 3266 向空气开启,并且操作泵以在通气口 3244 或 3264 上施加正压(或相反,即在通气口 3266 上施加负压,并且将通气口 3244 或 3264 向空气开启),流体随后被推入气体捕集器 3226。在气泡捕集器 3226 内,气泡上升到捕集器顶部,这样捕集器底部的液体不含气泡。来自药签的更多流体被吸至传感器 #1,并且

再次推入气泡捕集器内。此操作重复必要的次数,从而确保在气泡捕集器内收集到足够的没有气泡的液体,以进行检定。

[0294] 随后从气泡捕集器 3226 的底部提取不含气泡的试样液体(通过将通气口 3266 向空气开启,从通气口 3244 或 3264 吸气),直到流体前缘到达传感器 #1。闭合通气口 3266,并且将通气口 3262 向空气开启,向前吸引所限定的试样柱,从通气口 3262 牵引其后的空气。此过程精确测量出所限定的试样液体容量。随后牵引试样柱越过干燥检定试剂 3225,从而将其溶解-此试剂最好包括缓冲剂、用于检定的标记结合试剂(最好是抗体)、稳定试剂和/或其他例如阻断试剂的添加剂。对于使用亚硝酸作为提取试剂的检定,干燥检定试剂最好包括足够的碱(碱最好形成例如 Tris、Hepes、磷酸盐、PIPES 等的 pH 缓冲剂),从而使得试样的 pH 值在 4-10 之间,更优选是 5-9 之间,最优选是 6-8 之间。通过将试样在流体管路内前后移动,使用传感器以确保液体保持在导管的限定区域内,溶解的试剂可以混合到试样中。

[0295] 包括重新构成的检定试剂的试样随后被引入至检测腔室 3230 内,其中固定的结合试剂(最好是抗体)存在在单个结合区域上,更优选是位于电极阵列的电极上。在静态形式或在混合情形下,试样在结合区域上培育一段特定时间,这期间分析物和标记的结合试剂彼此结合和/或结合到各自的结合区域。通过在读出腔室端部的传感器之间前后移动试样来实现混合。

[0296] 在试样培育之前、期间和之后的某个时间,在其他结合腔室也进行正控制检定:在通气口 3241 向空气开启的情况下,通过在通气口 3264 上抽真空,冲洗缓冲剂从冲洗缓冲剂存储腔室 3240 被吸引到传感器 #2 处。通过闭合通气口 3241 和开启通气口 3244,计量流体柱,从而当其被引向控制检测腔室 3250 时,在计量的流体之后引入空气。随后计量的流体柱被引至干燥控制试剂 3252 上,并且溶解干燥控制试剂 3252。这些试剂最好包括:标记的结合试剂(最好是抗体)、限定量的检定分析物(以提供正控制)、稳定试剂和/或其他检定试剂。随后通过位于控制结合区域端部的传感器之间移动试样,在控制检测腔室 3250 内,以静态方式或混合方式,培育正控制试样,其包含计量的冲洗缓冲剂柱和再水合控制试剂。

[0297] 在培育步骤之后,正控制试样被引入废料腔室 3254 中,而提取的药签试样被引入废料腔室 3228 中。通过从冲洗缓冲剂腔室 3240 中吸取冲洗缓冲剂经过检测腔室、进入其相应的废料腔室(相应于检测腔室 3230 的废料腔室 3228,以及相应于控制检测腔室 3250 的废料腔室 3254),以顺序或同时方式冲洗两个检测腔室。最好通过在通气口 3244 处引入空气,分段冲洗步骤期间使用的冲洗试剂。冲洗之后,控制和试样结合区域均充满冲洗缓冲剂,从而完成流体顺序。有利地,冲洗试剂以与试样引入腔室 3230 的相反方向流经检测腔室 3230。此反流冲洗确保了有效去除试样和/或提取缓冲剂内的任何成分,其可能干扰检测腔室内的测量。

[0298] 最好通过如以上对盒 2500 所描述的 ECL 测量,来测量分析物和/或标记的结合试剂与检测腔室内结合区域的结合。通过将需要的电势施加到支撑结合区域的电极上,来开启 ECL。检测腔室 3250 内的正控制结合区域将为每一个检定提供正信号,并且可以用来确保盒上的检定试剂没有降解。来自检测腔室 3230 内的试样结合区域的任何一个的 ECL 信号指示存在分析物结合至那个捕获区域或与标记的试剂结合至那个捕获区域进行竞争。

[0299] 可以使用本发明的检定模块（最好是检定盒）来进行用于测量所关心分析物的各种不同检定形式，最好是基于电极感应发光测量的形式。检定最好包括以下步骤：将试样以及可选的一个或多个溶液相检定试剂引入至检测腔室（最好是贯流分析池）内，其包括一个或多个检定范畴（最好是多个检定范畴），检定范畴包含固定的检定试剂，其与所关心的分析物结合（至少具有一定程度的选择性）。最好至少具有两个检定范畴，其包括结合固定的结合试剂，这些试剂具有对于分析物不同的选择性。最好具有固定的结合试剂的形成图案的阵列。检测腔室最好包括多个电极，其包含一个或多个具有检定范畴的检定工作电极。在这个实例中，将电能施加到电极上（例如，如以上所描述的成对方式），从而在电极处感应出依赖于检定的信号（例如，如电流或电势的电化学信号，或更优选是电极感应发光信号，最优选是电致化学发光信号），其取决于试样中存在的所关心的分析物数量。测量依赖于检定的信号，从而确定所关心的分析物数量。检定可包括用冲洗溶液冲洗电极的步骤，或以非冲洗形式来实现该步骤。在冲洗的电致化学发光检定中，检定最好包括以下步骤：用溶液冲洗电极，其中溶液包含电致化学发光的共反应物（例如，如三丙胺或 PIPES 的叔烷基胺；合适的共反应物的其他实例，参看共同未决的美国专利申请 No. 10/238, 437，于 2002 年 9 月 10 日提交），以及在共反应物中感应 ECL。在非冲洗 ECL 检定中，最好与试样一起将共反应物引入至检测腔室内，或在引入试样前，共反应物就存在于检测腔室内。有利地，包括多个检定范畴，最好在多个电极上，的检定模块可以用来进行多个所关心的分析物的检定。

[0300] 在本发明的优选实施例中，本发明的检定模块（最好是检定盒）用来进行结合检定，最优选是夹层或竞争性的结合检定，优选是夹层或竞争性的免疫测定。可选地，这种检定可包括以下步骤：将标记的结合试剂引入至检测腔室内，例如所关心的分析物的标记的结合配偶体或与所关心的分析物竞争所关心的分析物的结合配偶体的标记的竞争物。作为另一种选择，这些试剂可以以干或湿的形式存储在检测腔室内。进行结合检定的更多信息，更优选是使用基于电致化学发光检测的信息，参看共同未决的美国专利申请 10/185, 274，于 2002 年 6 月 28 日提交，以及共同未决的美国专利申请 10/238, 391，于 2002 年 9 月 10 日提交，这些专利申请披露的内容在此作为参考。

[0301] 检定模块（最好是检定盒）可以用来进行一组检定。适当的组包括以下检定组，用于与特定生物化学系统、生物化学轨迹、组织、有机体、细胞类型、细胞器官、疾病状态、受体类型、酶类型、病原体类型、环境试样、食物试样等相关的分析物或活性物。优选的组包括细胞因子免疫测定和 / 或其受体的免疫测定（例如，TNF- α 、TNF- β 、IL1- α 、IL1- β 、IL2、IL4、IL6、IL10、IL12、IFN- γ 等的一个或多个），生长因素和 / 或其受体（例如，EGF、VGF、TGF、VEGF 等的一个或多个）、第二信使（例如，cAMP、cGMP、磷酸化形式的纤维醇和磷脂酰纤维醇等）、药物滥用、治疗药物、自身抗体（例如，针对 Sm、RNP、SS-A、SS-B、Jo-1 和 Scl-70 抗原的一个或多个抗体）、过敏原特殊抗体、肿瘤标记、心脏病标记（例如，肌钙蛋白 T、肌钙蛋白 I、肌血球素、CKMB 等的一个或多个）、与止血法相关的标记（例如，纤维蛋白单体、D-二聚物、凝血酶-抗凝血酶联合体、凝血素片段 1&2、抗因素 Xa 等的一个或多个）、急性病毒性肝炎传染病的标记（例如，A 型病毒性肝炎的 IgM 抗体、B 型肝炎核心抗原的 IgM 抗体、B 型肝炎的表面抗原、C 型病毒性肝炎的抗体等等的一个或多个）、阿耳茨海默氏病的标记（ β -胶化纤维素、 τ -蛋白质等等）、骨质疏松症的标记（例如，交联 N 或 C-端肽、总脱氧吡啶啉、游离脱氧吡啶啉、骨钙素、碱性磷酸酶、I 型胶原羧基端前肽、骨特异性碱性磷酸

酶等等的一个或多个)、生育力标记(例如,雌二醇、黄体酮、促卵泡激素(FSH)、促黄体生成激素(LH)、泌乳刺激素、 β -hCG、睾丸激素等的一个或多个)、充血性心力衰竭标记(例如, β -尿钠排泄蛋白质(BNP)、 α -尿钠排泄蛋白质(ANP)、内皮素、醛甾酮等的一个或多个)、甲状腺紊乱标记(例如,促甲状腺激素(TSH)、总T3、游离T3、总T4、游离T4以及反T3的一个或多个)以及衰竭癌标记(例如总PSA、游离PSA、合成的PSA、前列腺酸性磷酸酶、肌酸激酶等的一个或多个)、上呼吸道感染的病原体(例如,A型流感、B型流感、呼吸道合胞病毒、链球菌菌群)、食物和水中发现的病原体(例如,沙门氏菌、李斯特氏菌、似隐孢菌素、弯曲菌属、E大肠菌0157等等)、性传播疾病(例如,HIV、梅毒、疱疹、淋病、HPV等等)、血携带病原体和可能的生物恐怖主义试剂(例如,选择A、B和C试剂的CDC列表的病原体和毒素,例如炭疽杆菌、鼠疫杆菌、天花、兔热病菌、蓖麻毒素、肉毒杆菌毒素、葡萄球菌肠毒素等)。优选的组也包括核酸阵列,用于测量细胞因子、生长因子、凋亡轨迹的成分、P450酶的表达、肿瘤相关基因的表达、病原体(例如以上列出的病原体)等的mRNA编码的mRNA水平。优选的组也包括基因个体(例如,SNP分析物)、病原体、肿瘤细胞等的核酸阵列。优选的组也包括酶和酶底物的存储库(例如,遍在化的底物和/或酶、蛋白酶活性、致活酶活性、磷酸酶活性、核酸处理活性、GTPase活性、鸟嘌呤核苷交换活性、GTPase活化活性等)。优选的组也包括受体或配体的存储库(例如,连结G蛋白的受体、酪氨酸激酶受体、核激素受体、细胞粘着分子(粘合素、VCAM、CD4、CD8)、主组织相容性合成蛋白、烟碱酸受体等的组)。优选的组也包括不同来源的细胞存储库、细胞膜、膜片段、重新构成的膜、细胞器官等(例如,不同细胞类型、细胞系、组织、有机体、活化状态等)。

[0302] 本发明也包括成套工具。成套工具可包括制造本发明的检定模块所需要的拆卸部件。作为另一种选择,在一个或多个贮存器内,成套工具可以包括本发明的检定模块和至少一个额外的进行检定所需的检定试剂。一个或多个检定试剂可以包括但不限于:结合试剂(最好是标记的结合试剂,更优选是标记有电致化学发光标记的结合试剂),该结合试剂是所关心的分析物、ECL共反应物、酶、酶底物、提取试剂、检定校准标准或控制、冲洗溶液、稀释液、缓冲剂、标记(最好是电致化学发光标记)等所特定的。本发明的优选成套工具包括:适合提取试样的盒(如以上所详述的),最好是由涂抹器棒上所收集的试样。这些成套工具最好包括具有与特定盒相匹配的特性的涂抹器棒(更优选是药签)。涂抹器棒最优选具有与盒内试样引入腔室的几何形状匹配的弱点,使得:i)棒可以插入盒内,并且在盒里断裂,从而形成头部,并且ii)头部可以密封在试样腔室内。这种成套工具也可包括用来提取涂抹器棒上试样的提取缓冲剂。本发明的一个实施例是用来测量上呼吸道病原体或存在于包含粘液的试样中的病原体的成套工具。成套工具包括用于收集试样的涂抹器棒(最好是药签)(最好是包含弱点的棒)以及用于测量一组病原体的盒(例如,一组上呼吸道、一组性传播疾病、一组驻留在粘液膜内的病原体等),该盒最好包含一个或多个结合区域,该区域包含结合了这些病原体的标记的结合试剂。成套工具也可以包含(在盒内或作为独立部件)一个或多个针对这些病原体标记的结合试剂。

[0303] 本发明包括如以上所描述的检定模块(最好是检定盒)以及模块读出器(最好是盒读出器)。这些可以作为单独部件提供。本发明也包括检定系统,其包括检定模块(最好是盒)和模块读出器(最好是盒读出器)。

[0304] 本发明并不限于在此描述的特定实施例的范围。实际上,对于本领域的那些普通

技术人员来说,这是显然的;除了在此描述的那些以外,从先前的描述和附图中可以对本发明进行多种变动。这些变动在权利要求书的范围内。

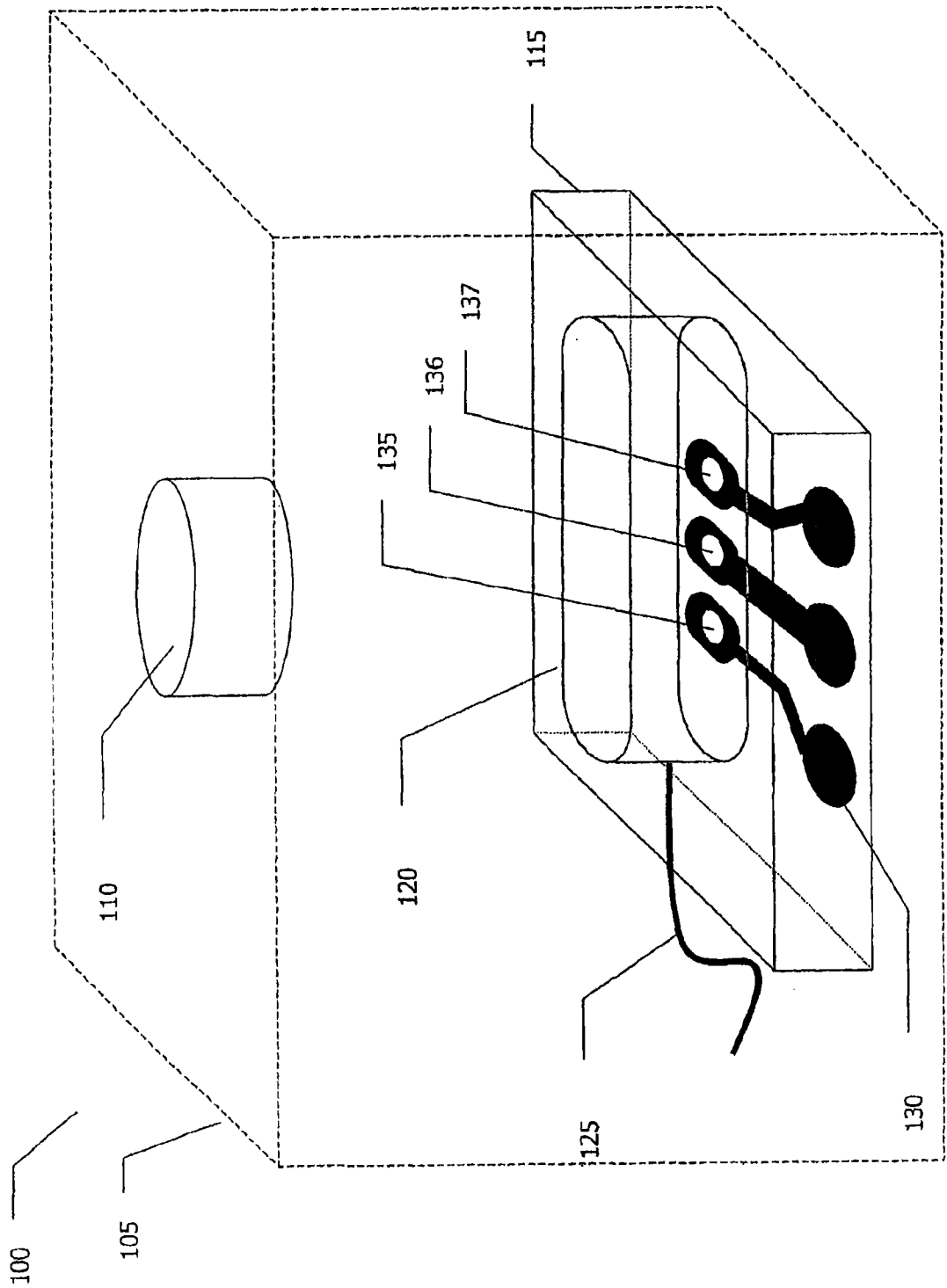


图 1a

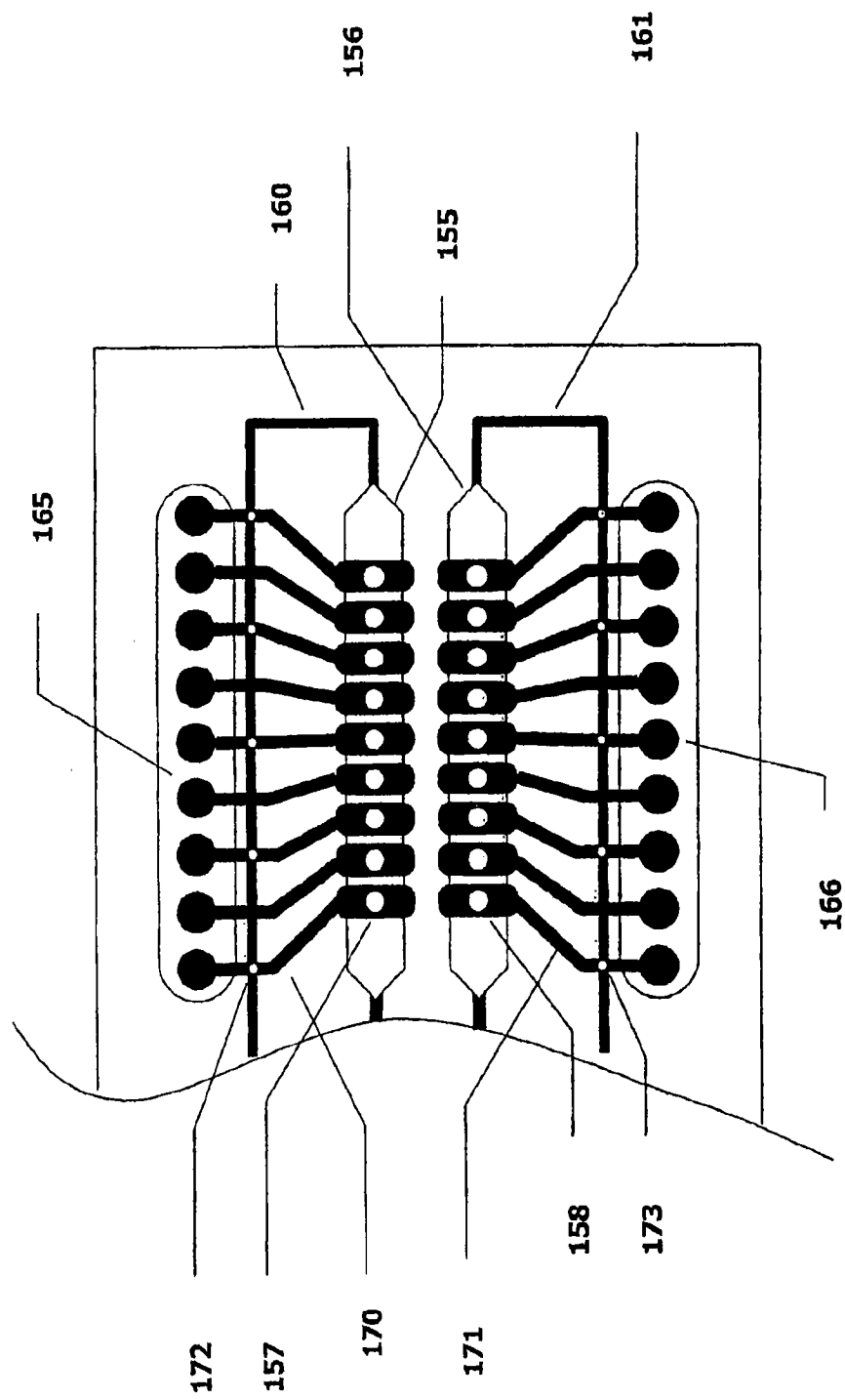


图 1b

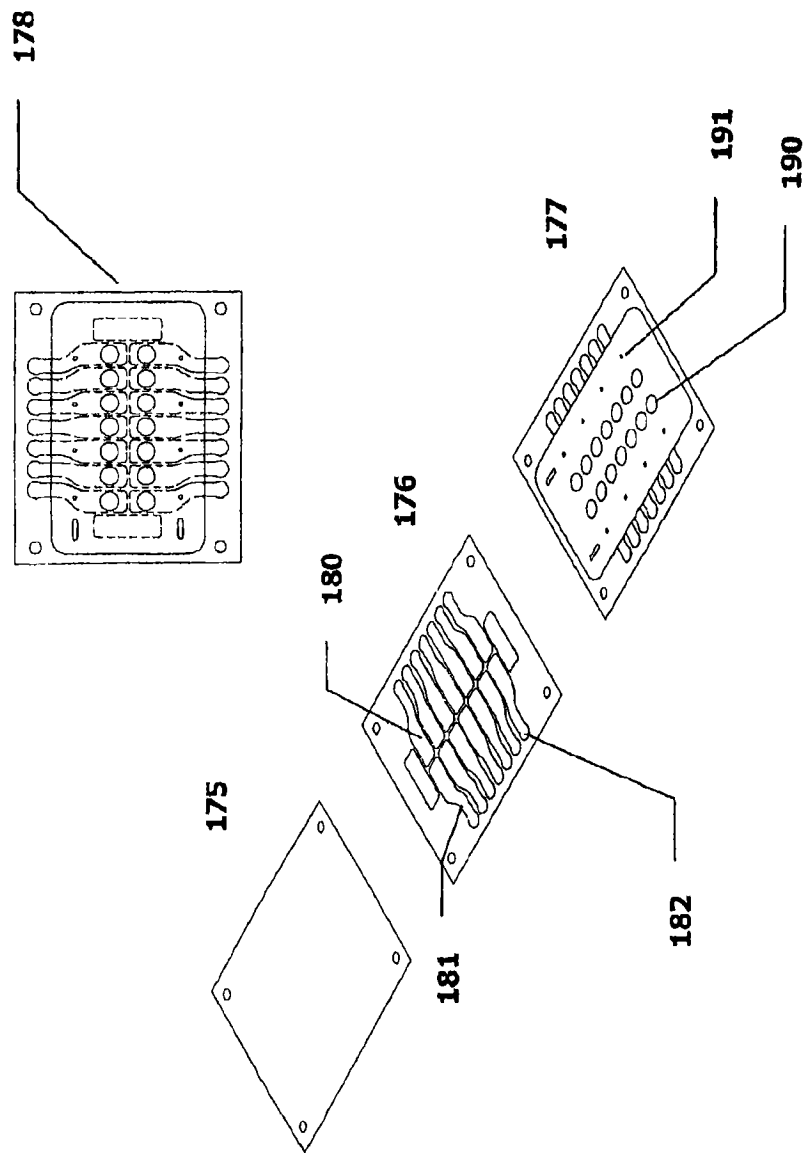


图 1c

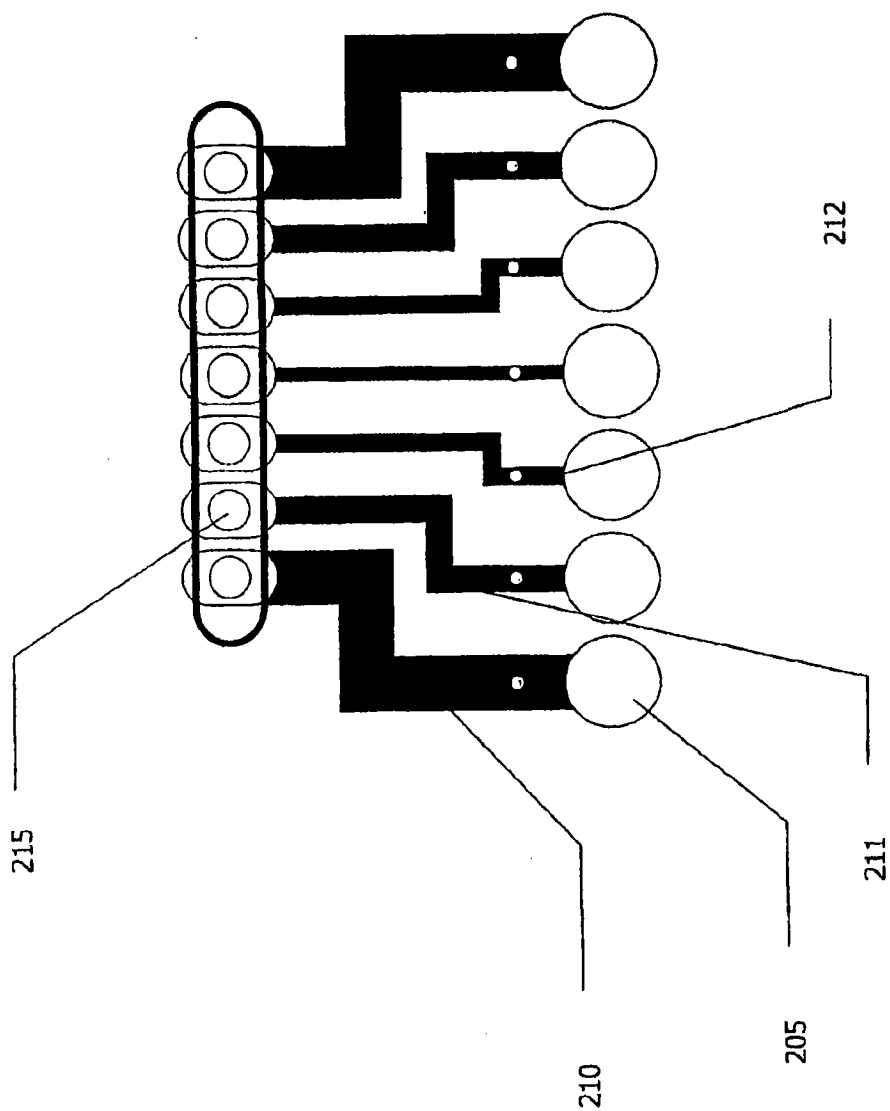


图 2

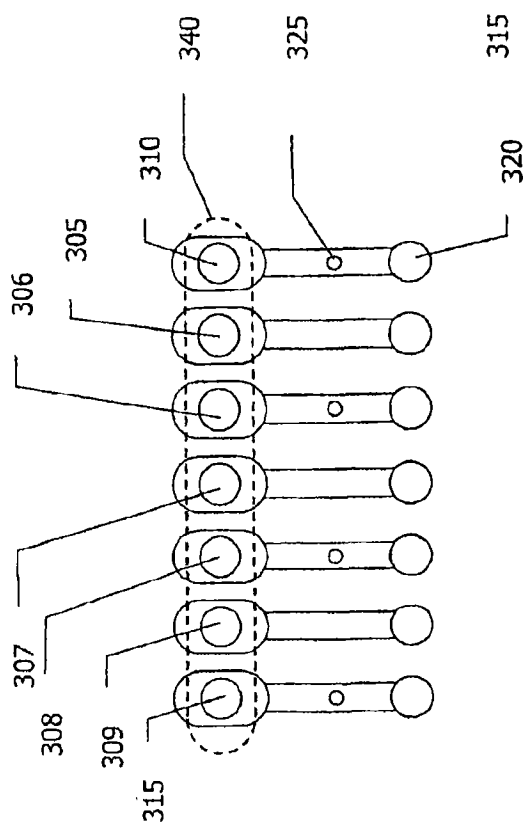


图 3a

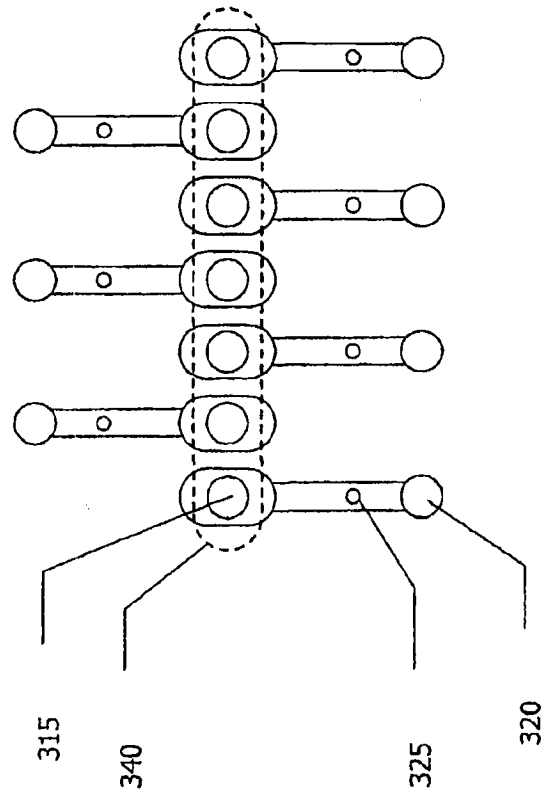


图 3b

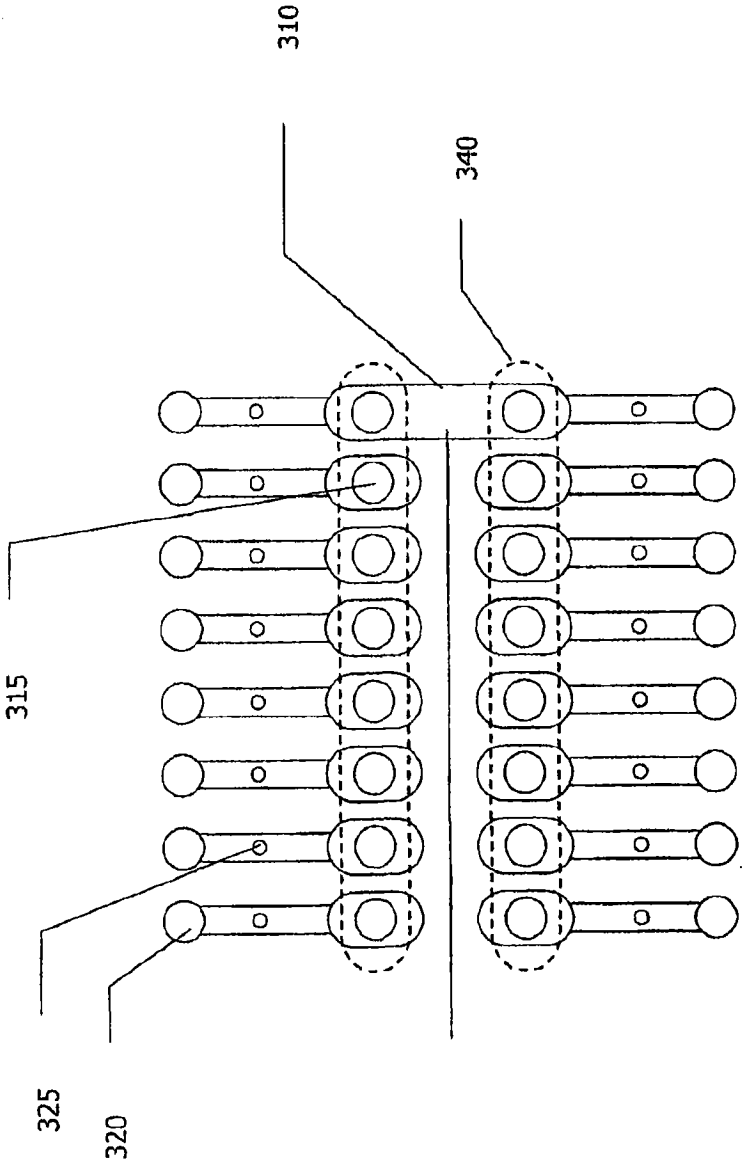


图 3c

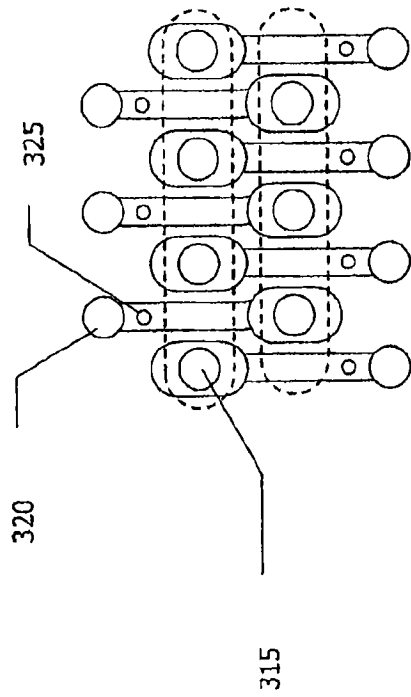


图 3d

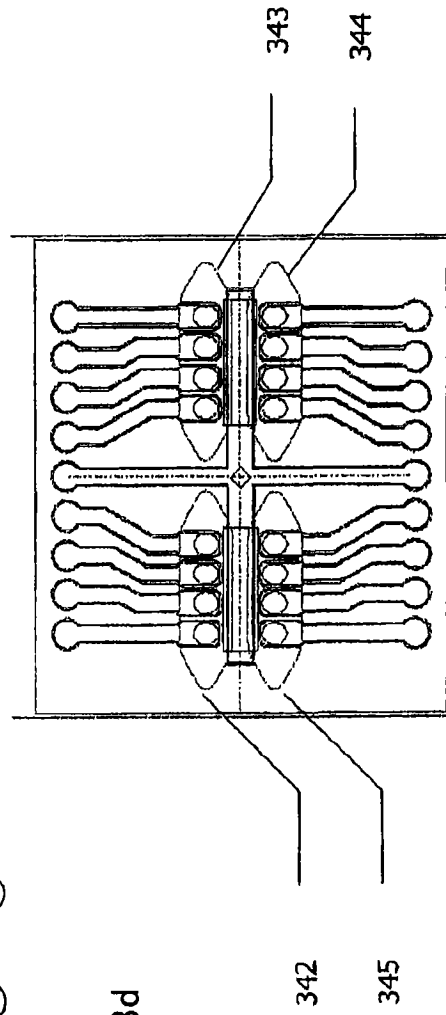


图 3e

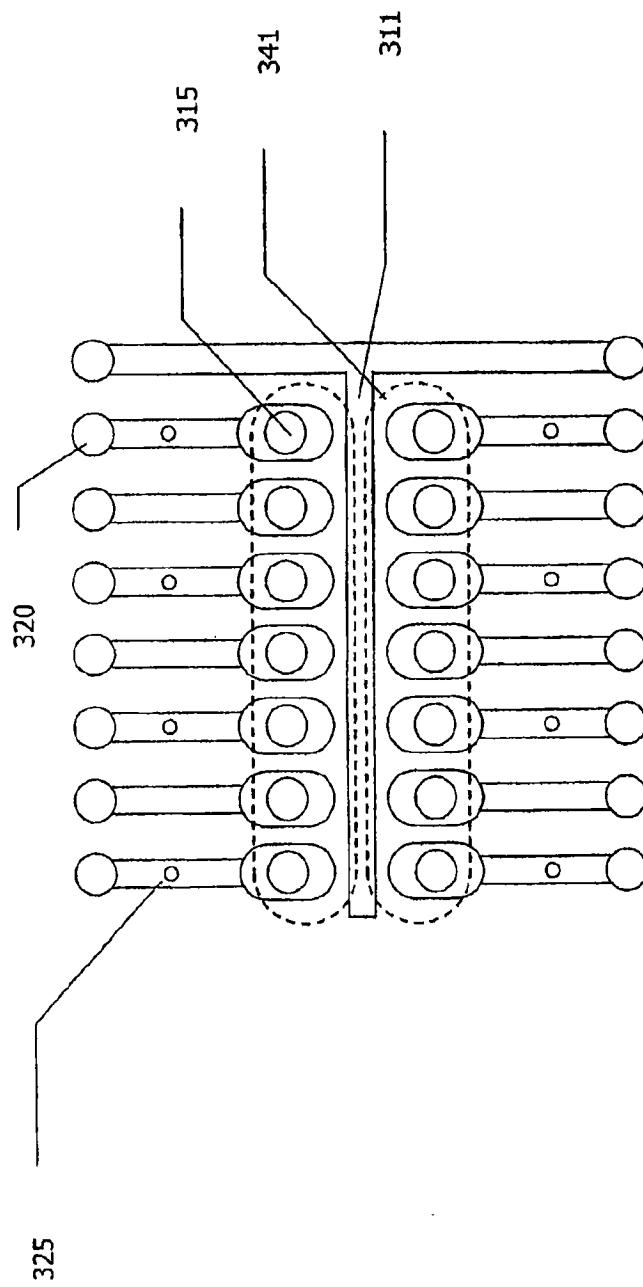


图 3f

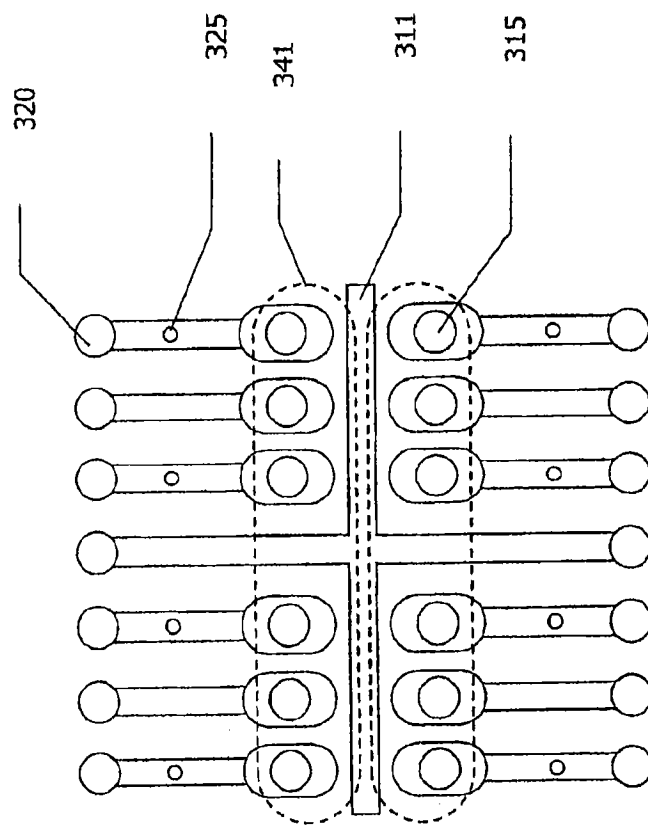


图 3g

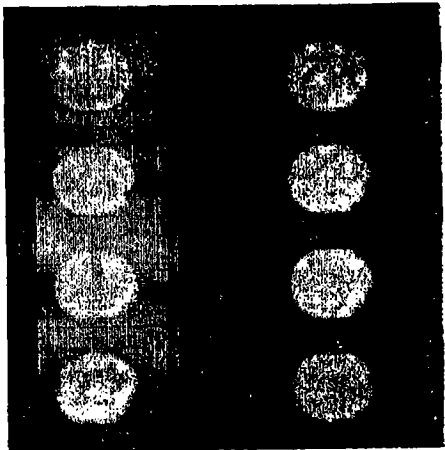


图 6a

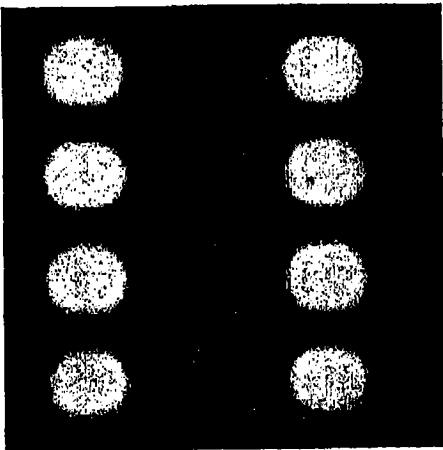


图 6b

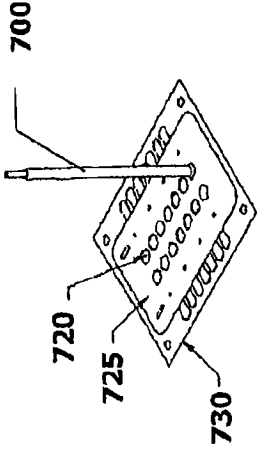


图 7a

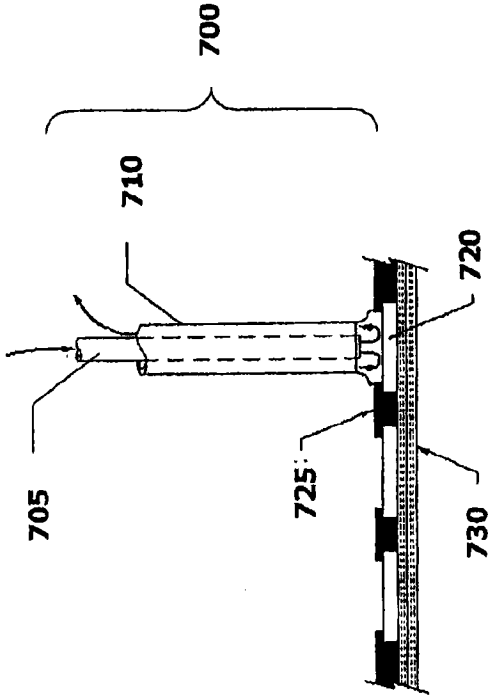


图 7b

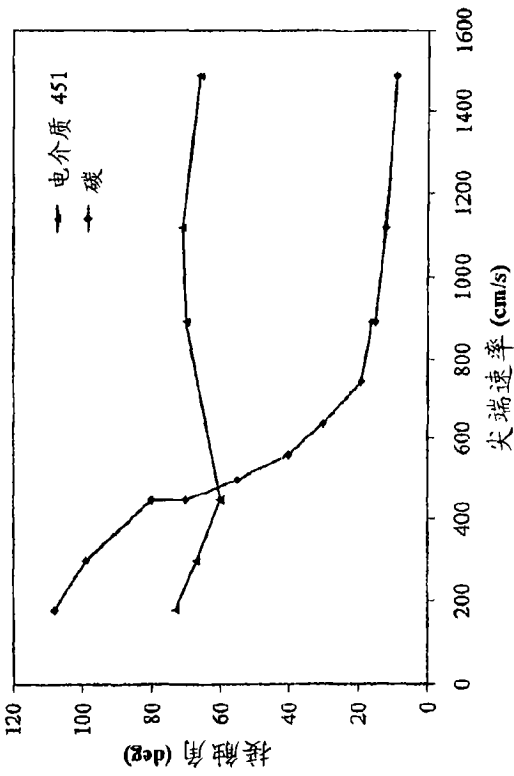


图 8

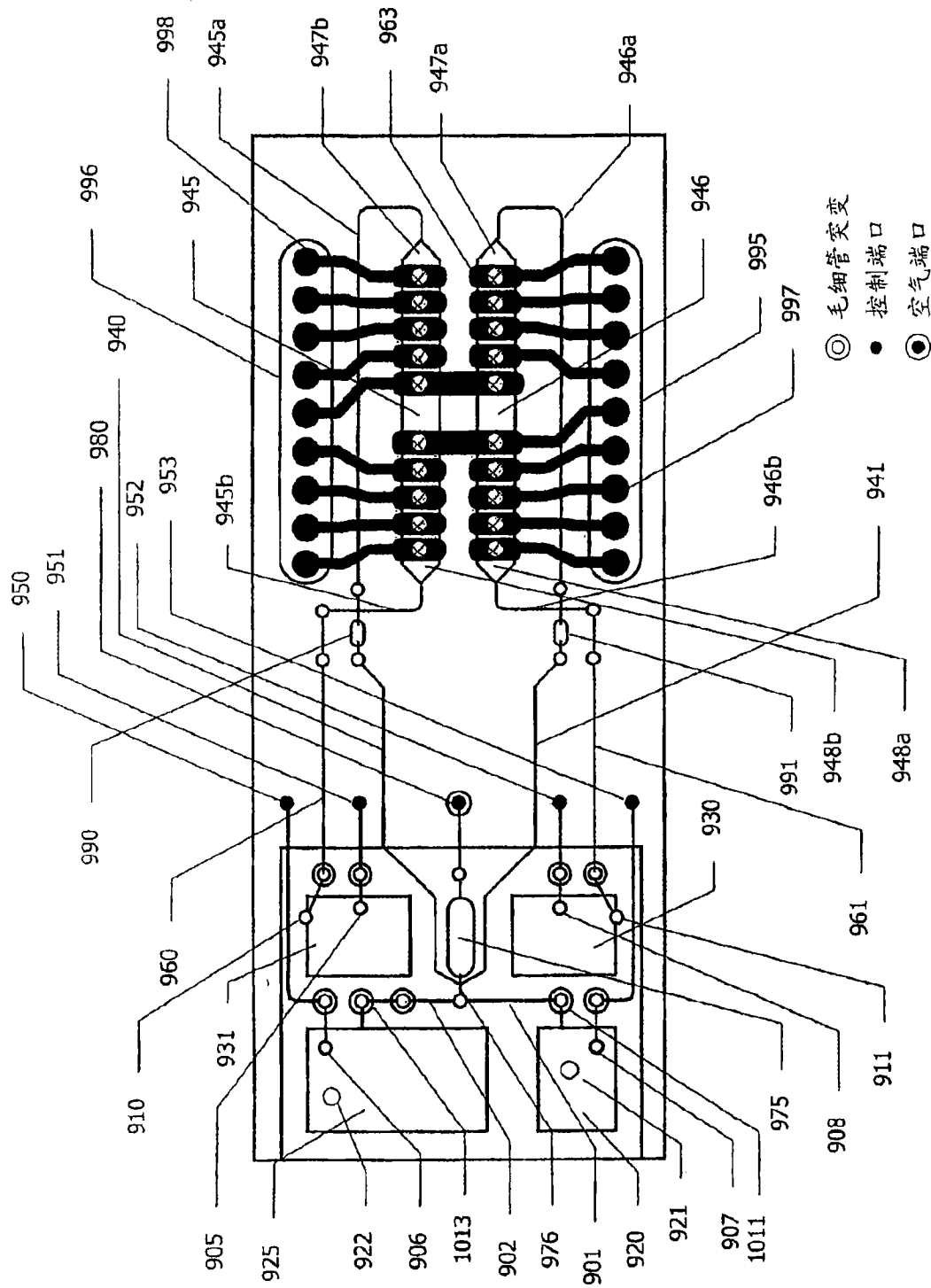


图 9

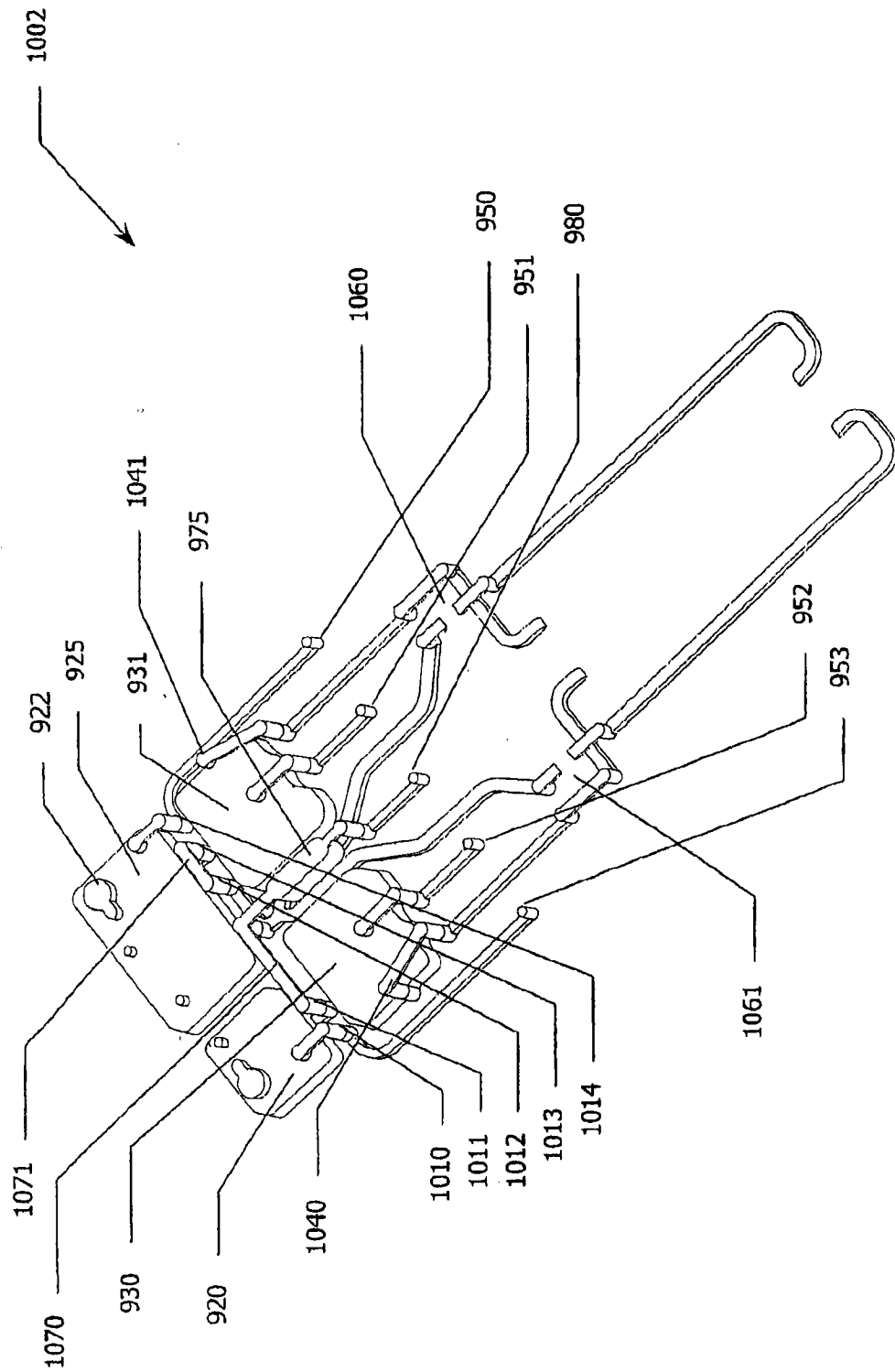


图 10

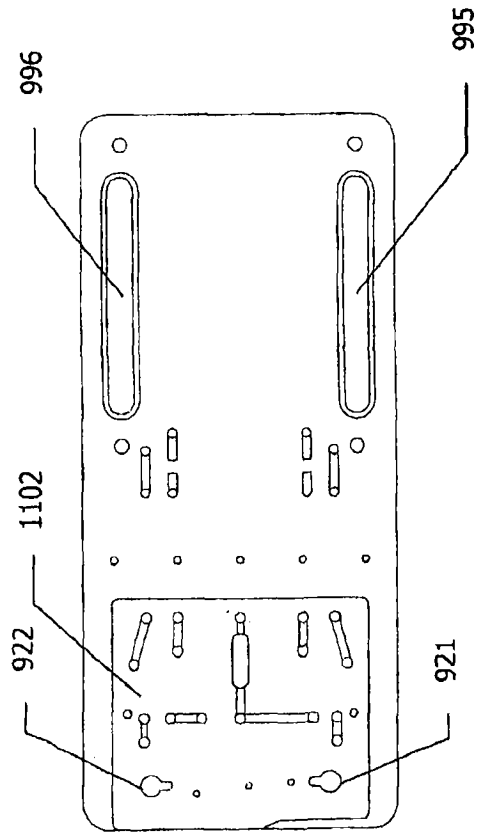


图 11a

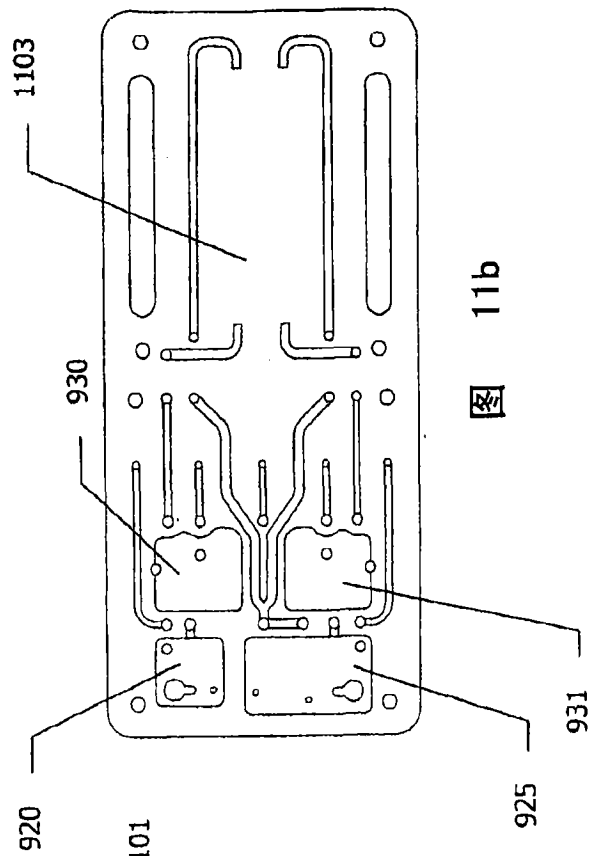


图 11b

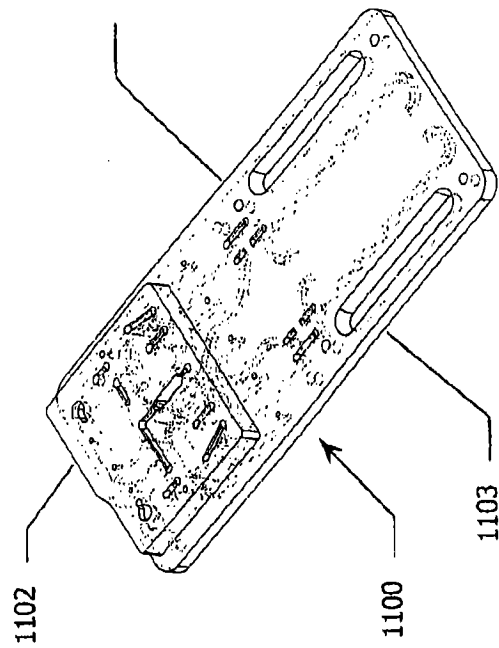


图 11c

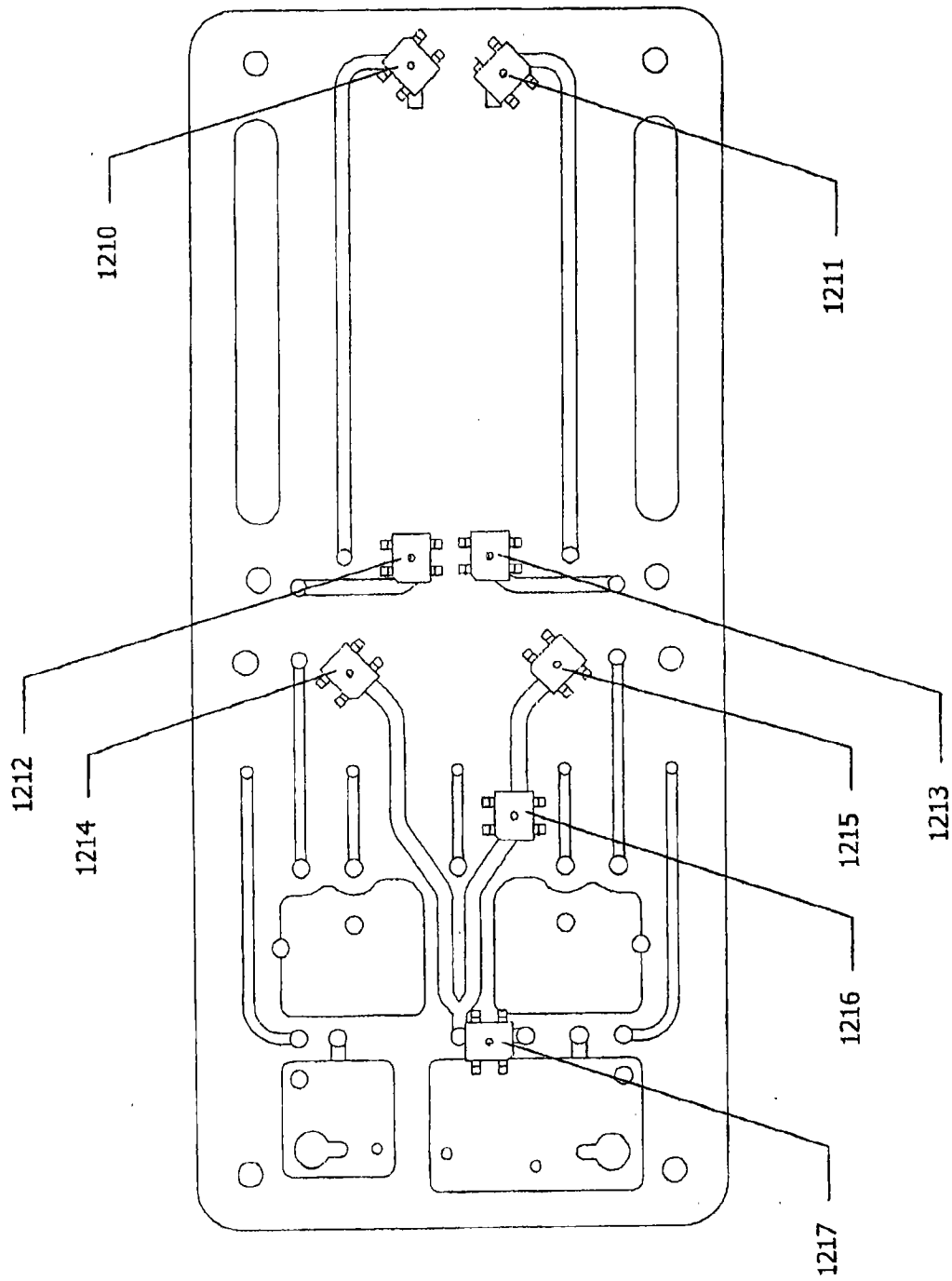


图 12

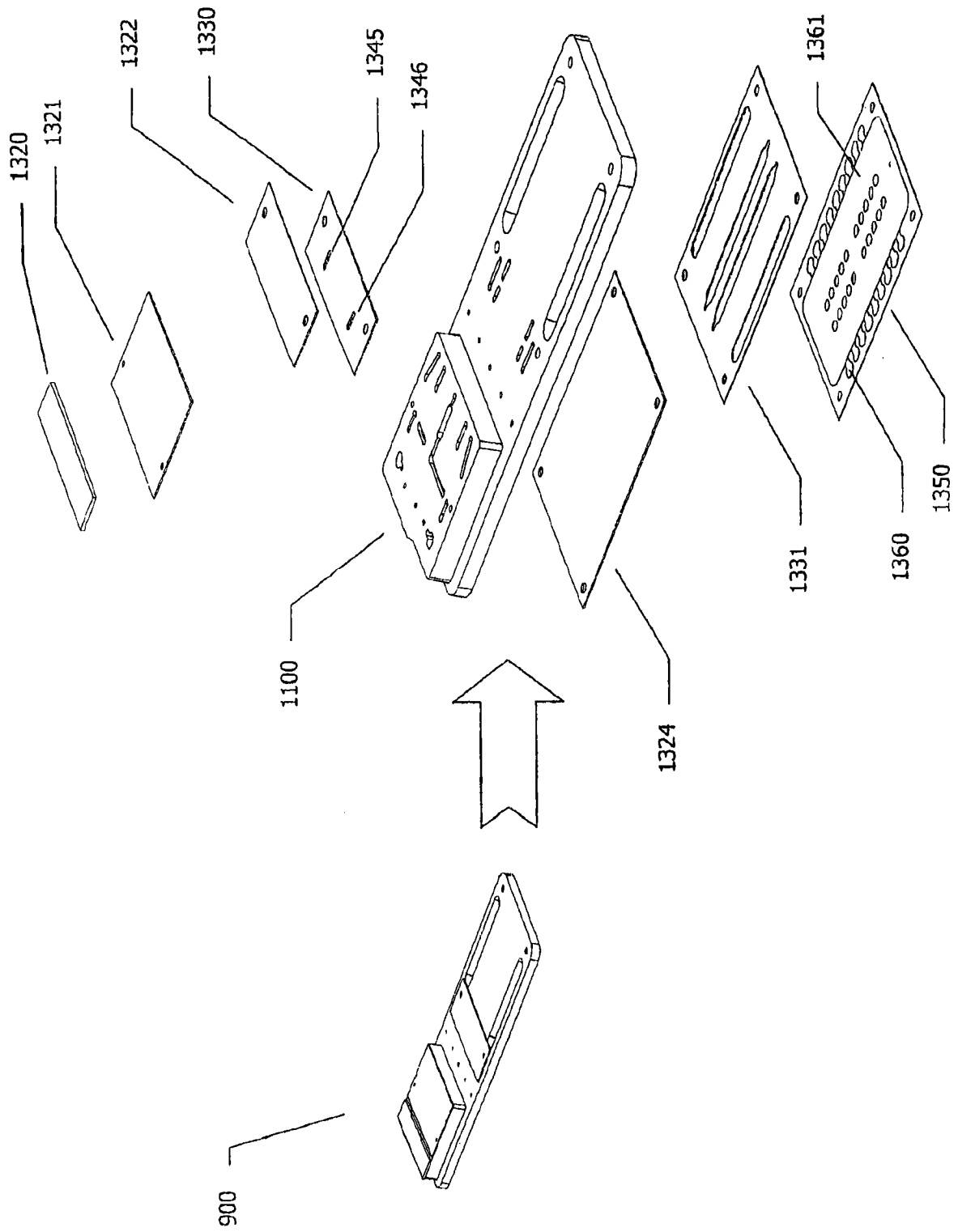


图 13a

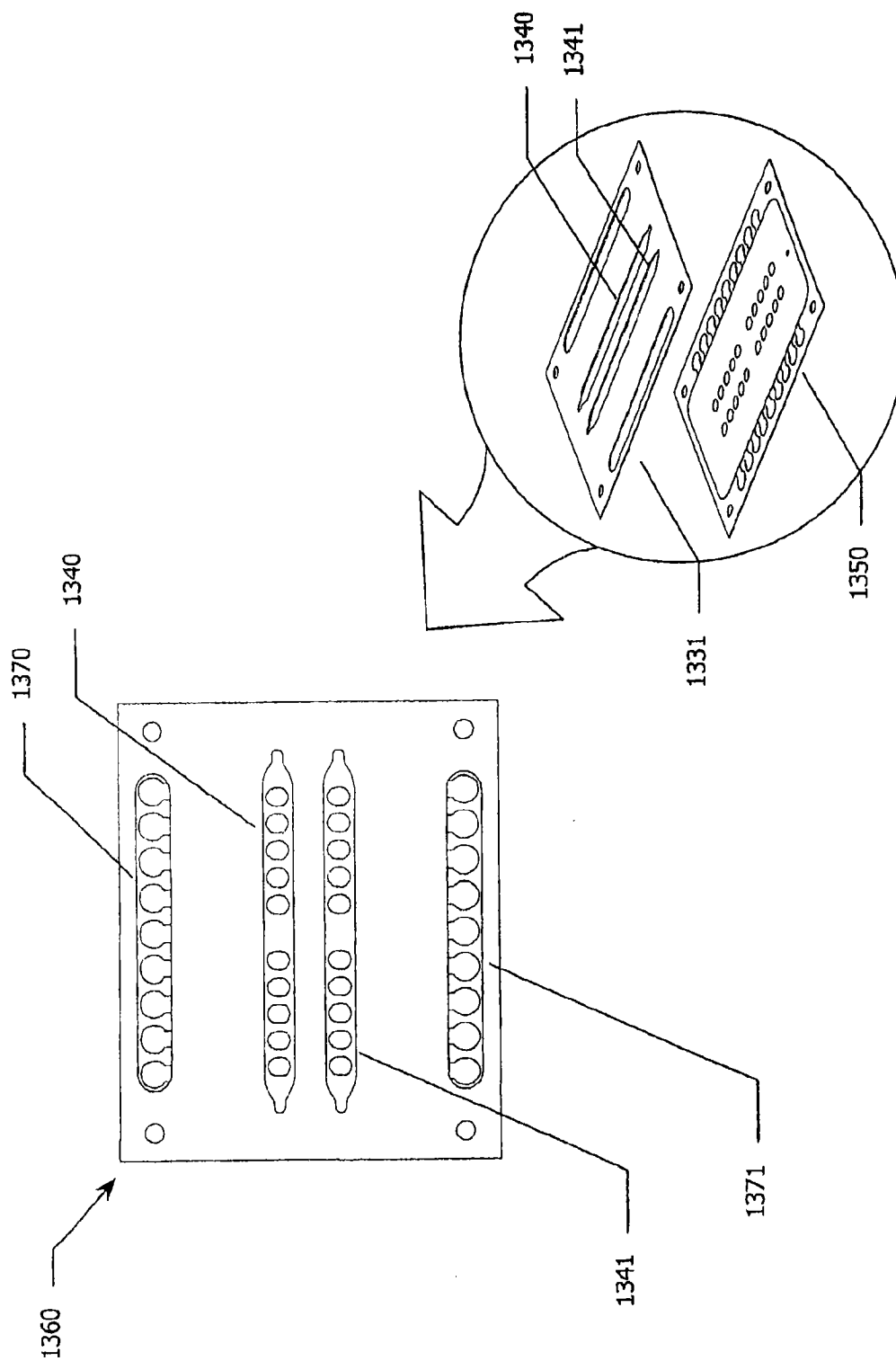


图 13b

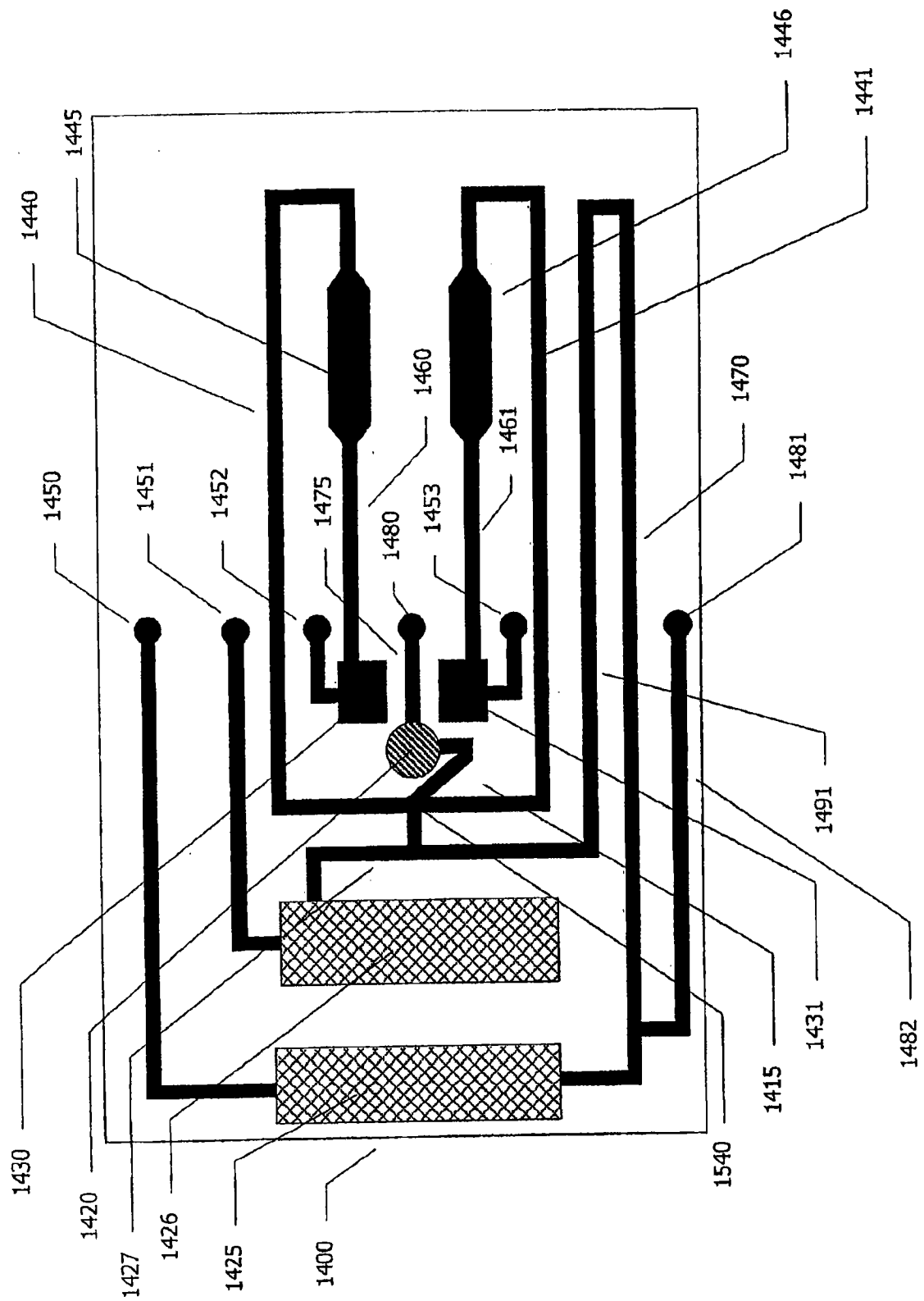


图 14a

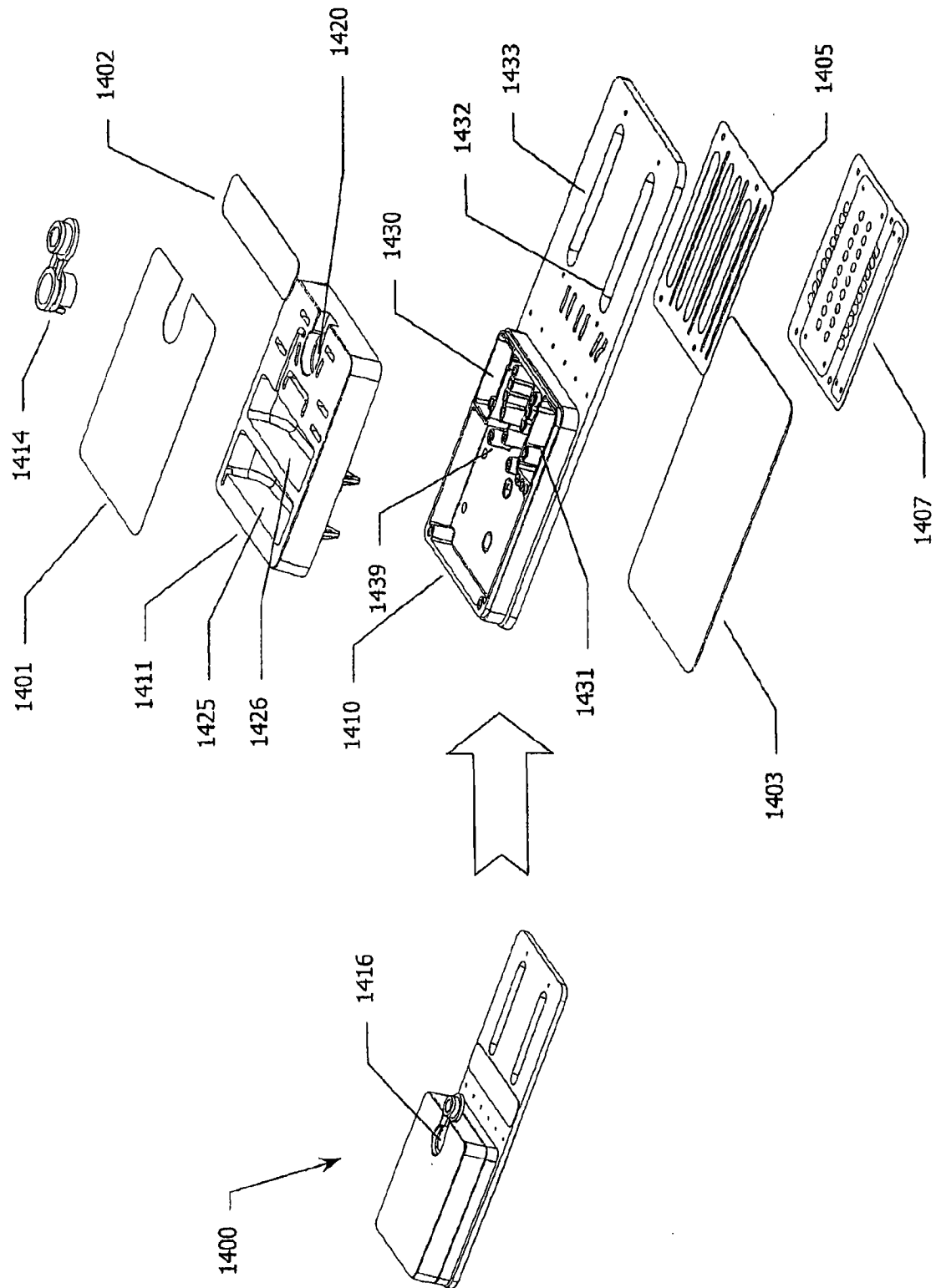


图 14b

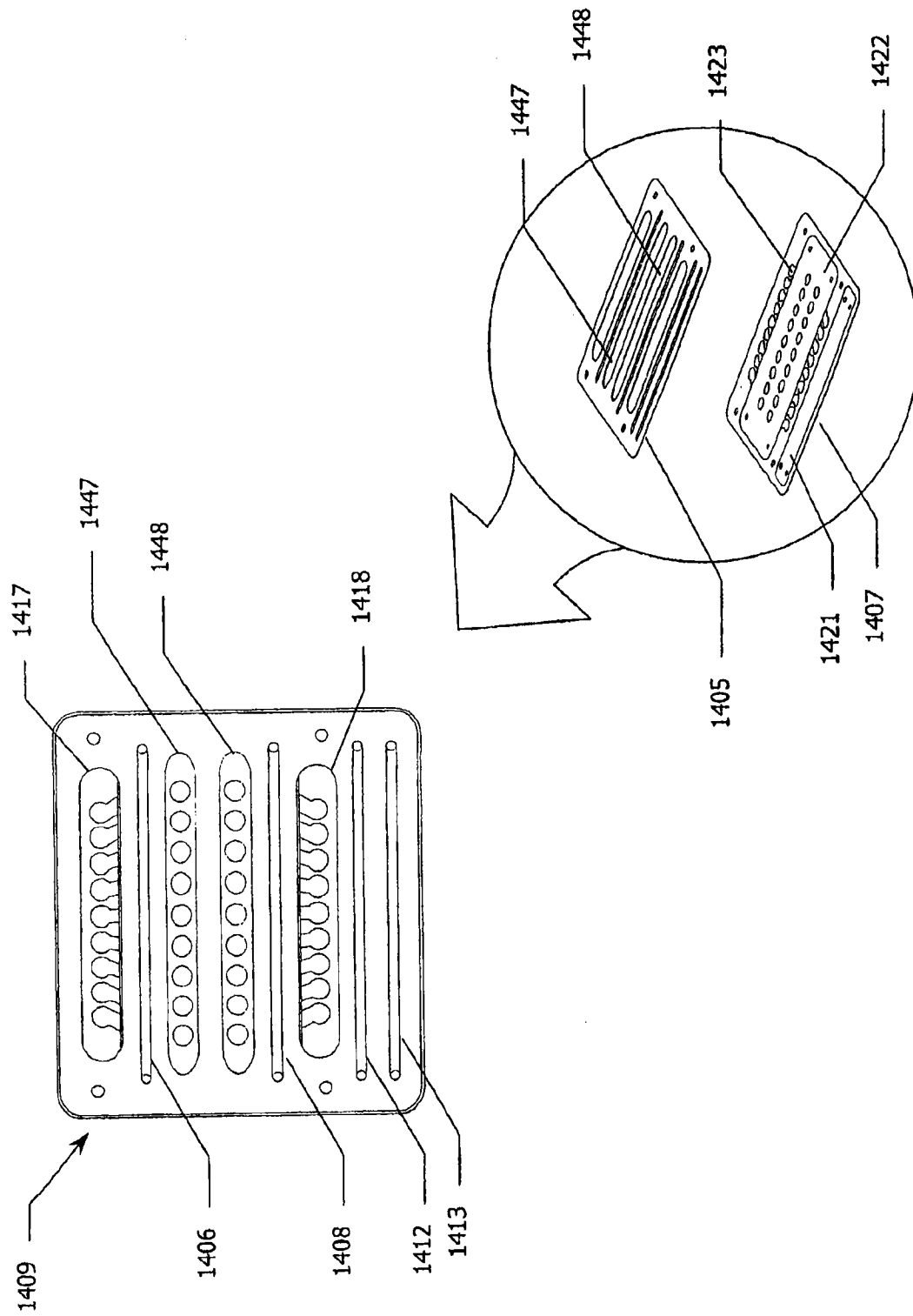


图 14c

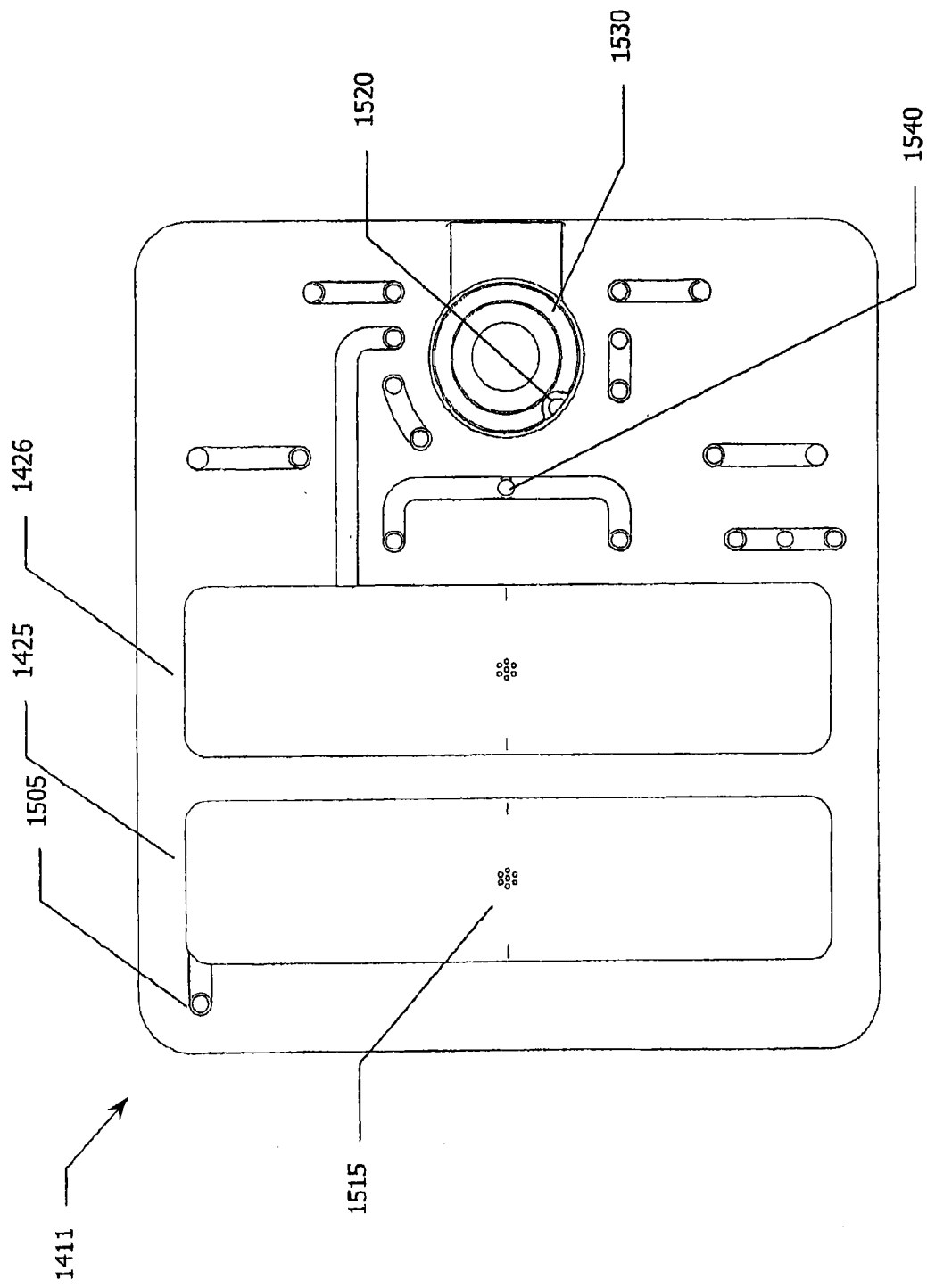


图 15a

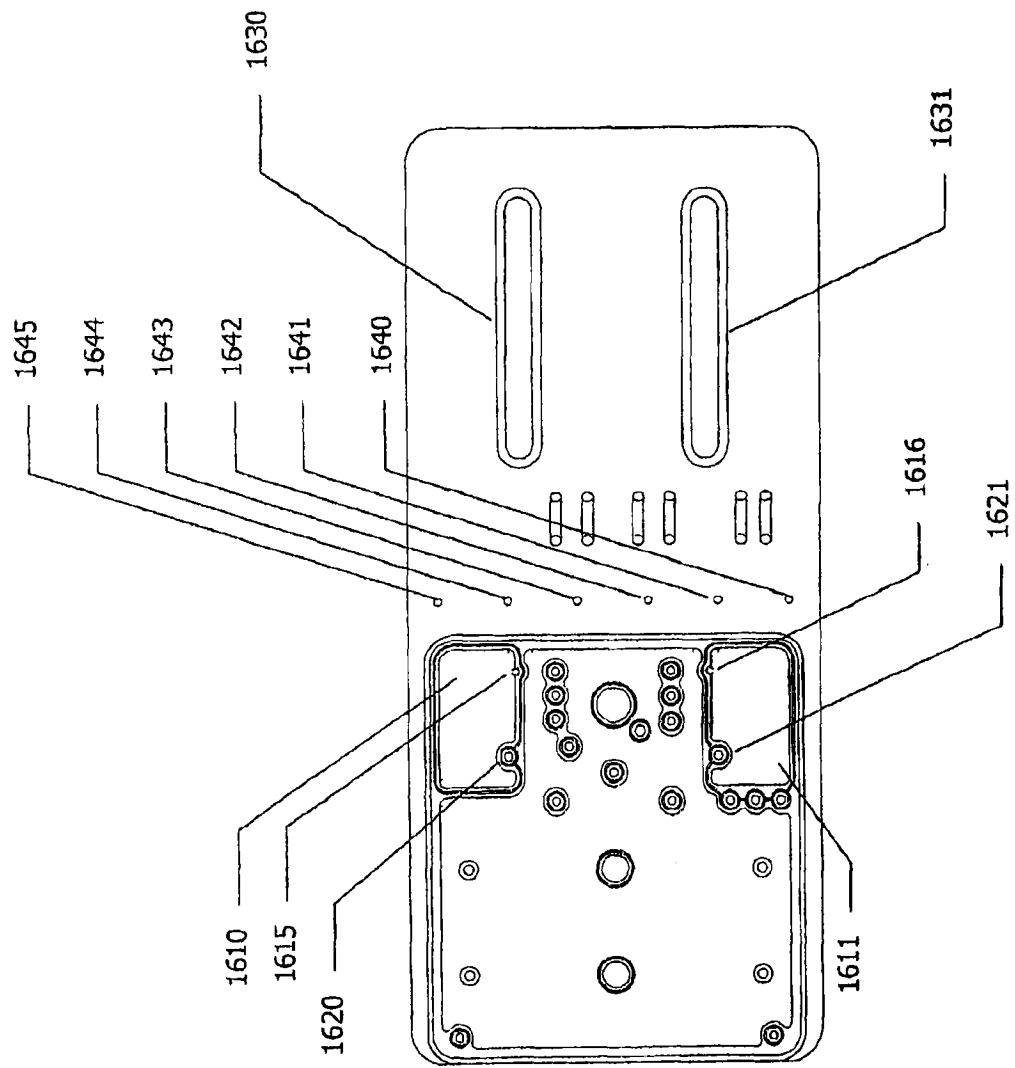


图 16a

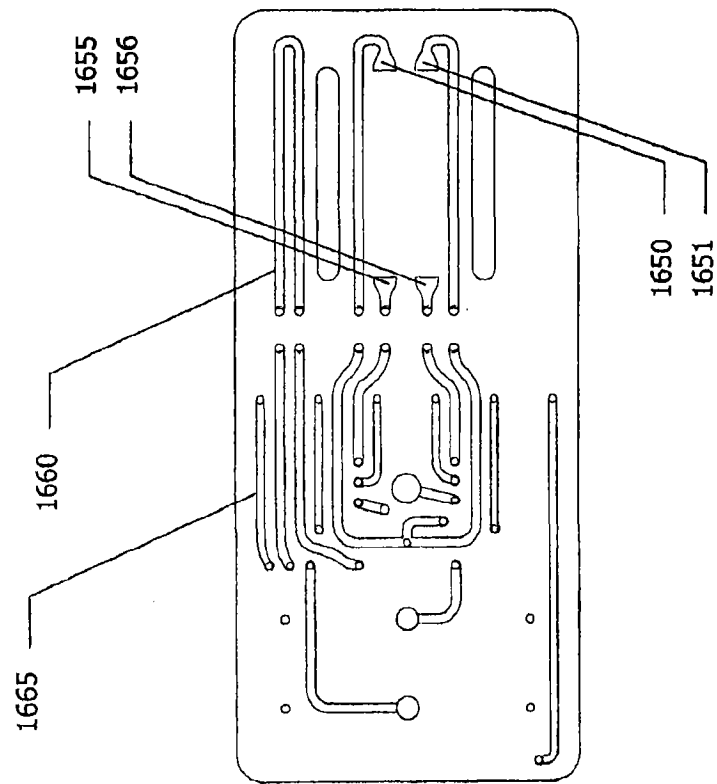


图 16b

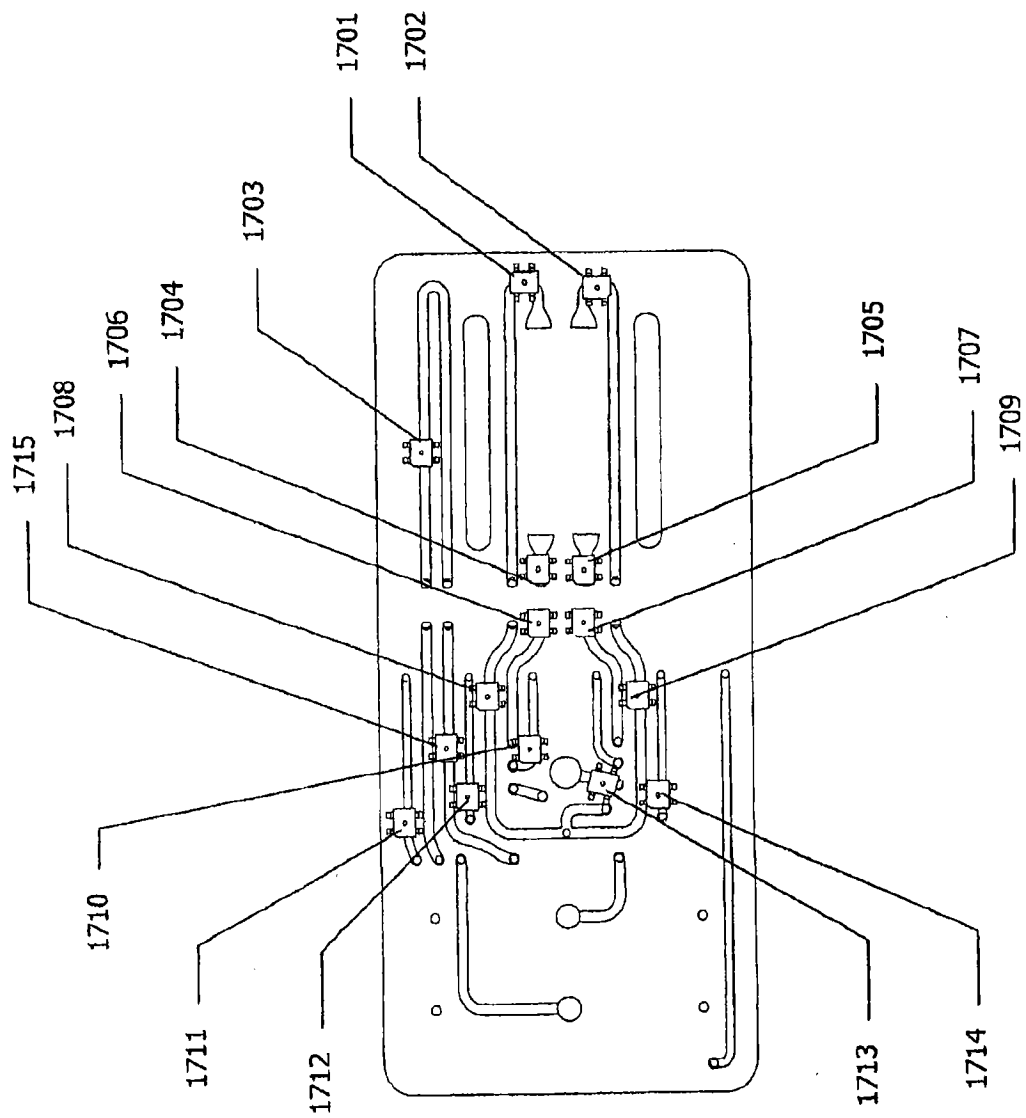
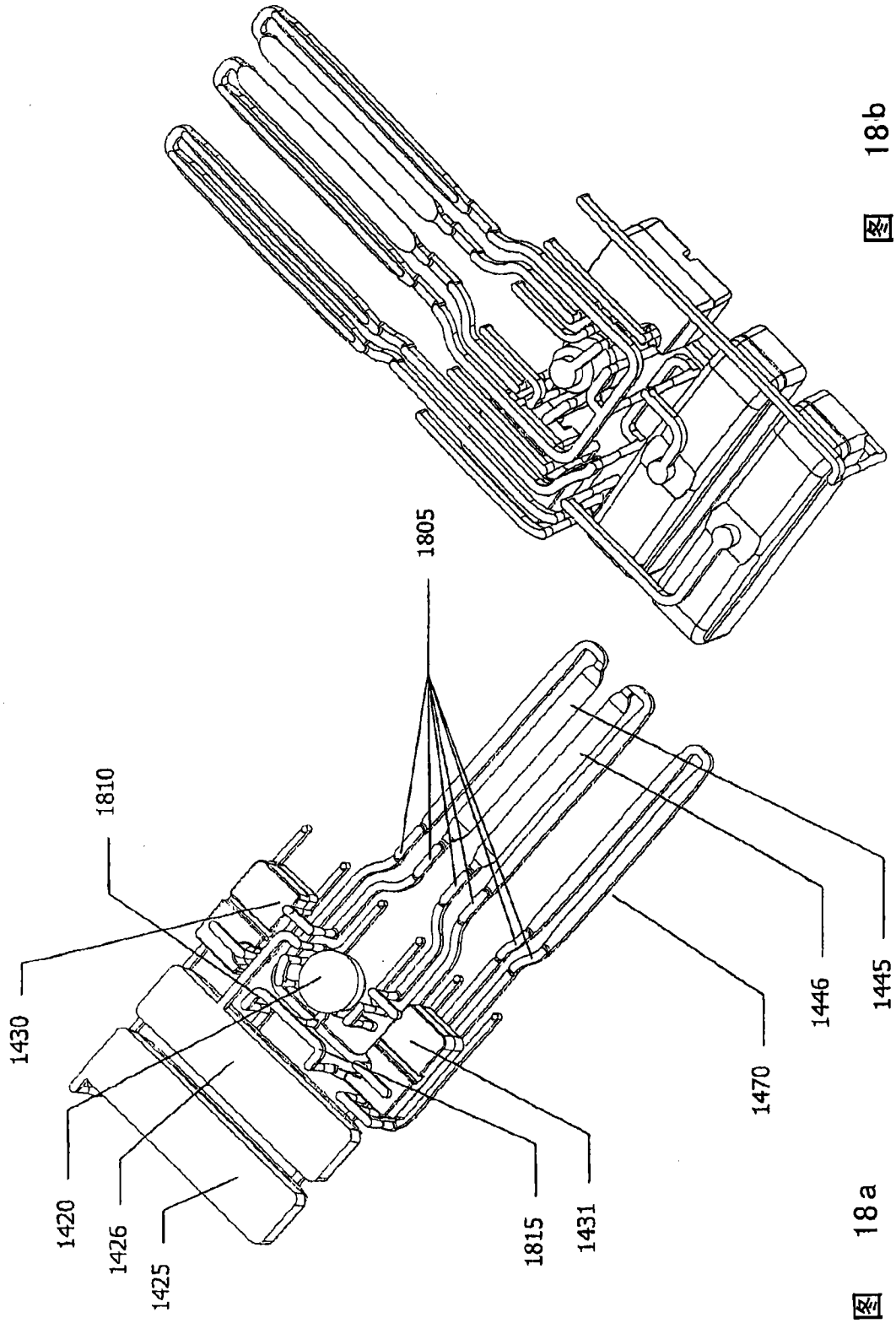


图 17



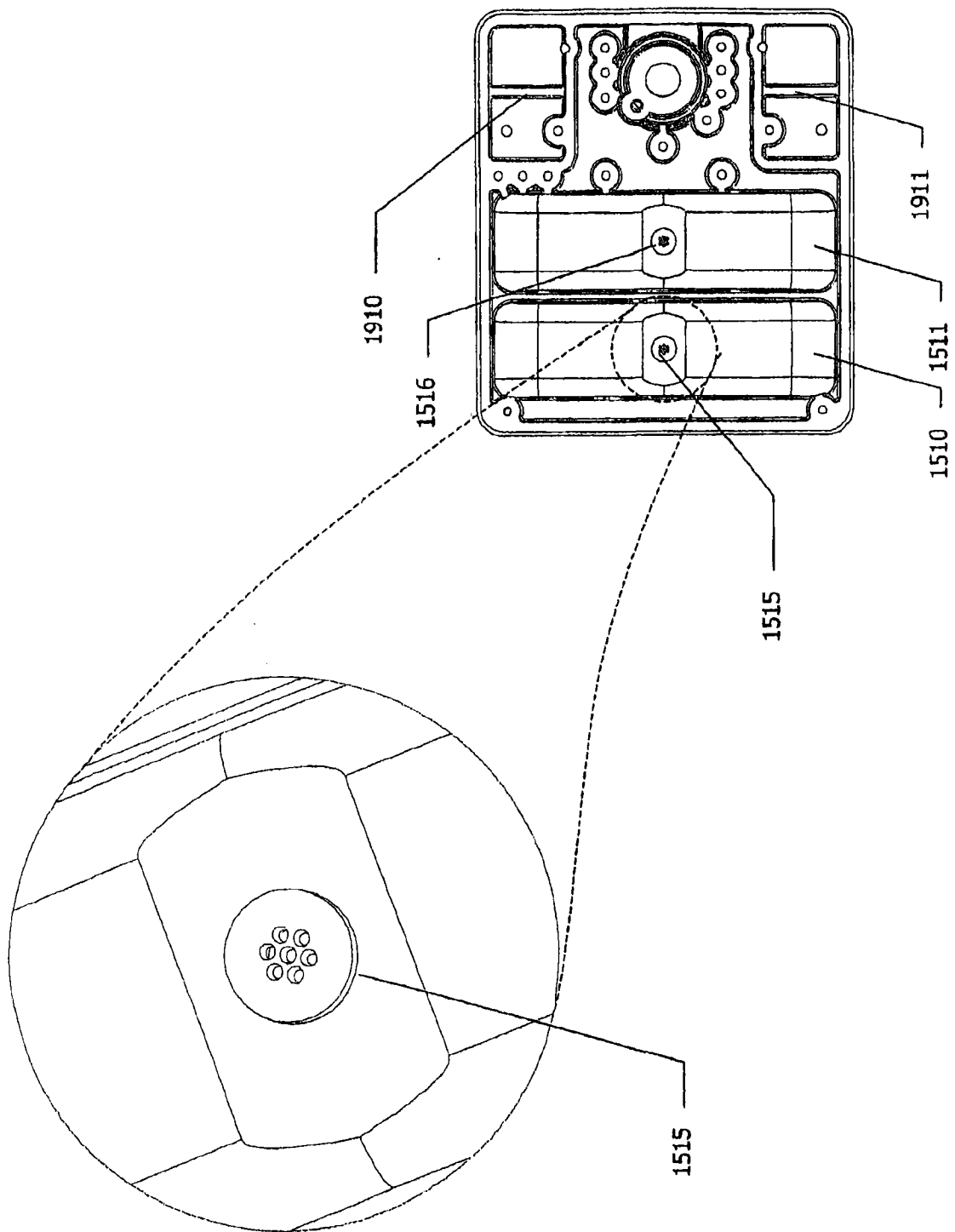


图 19

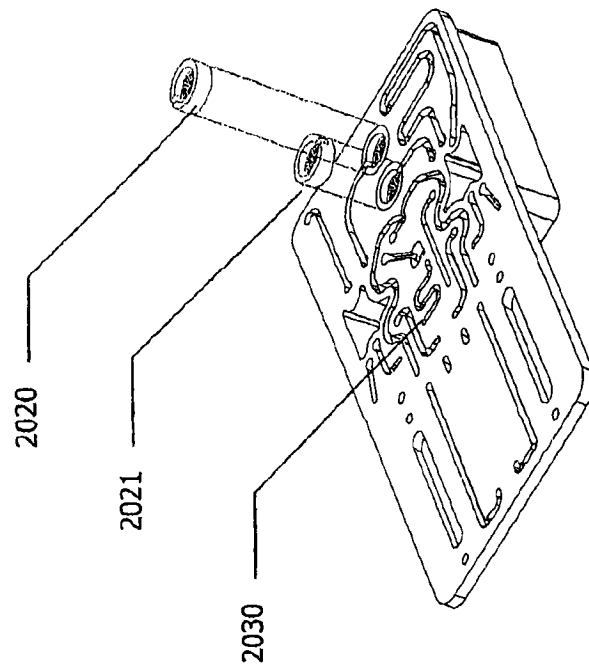


图 20

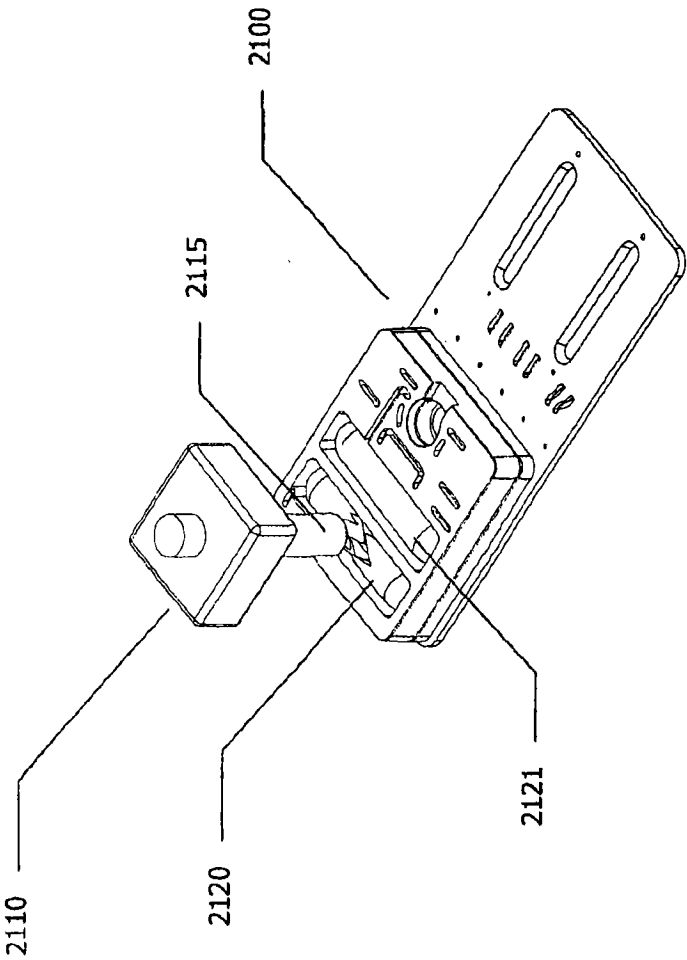


图 21

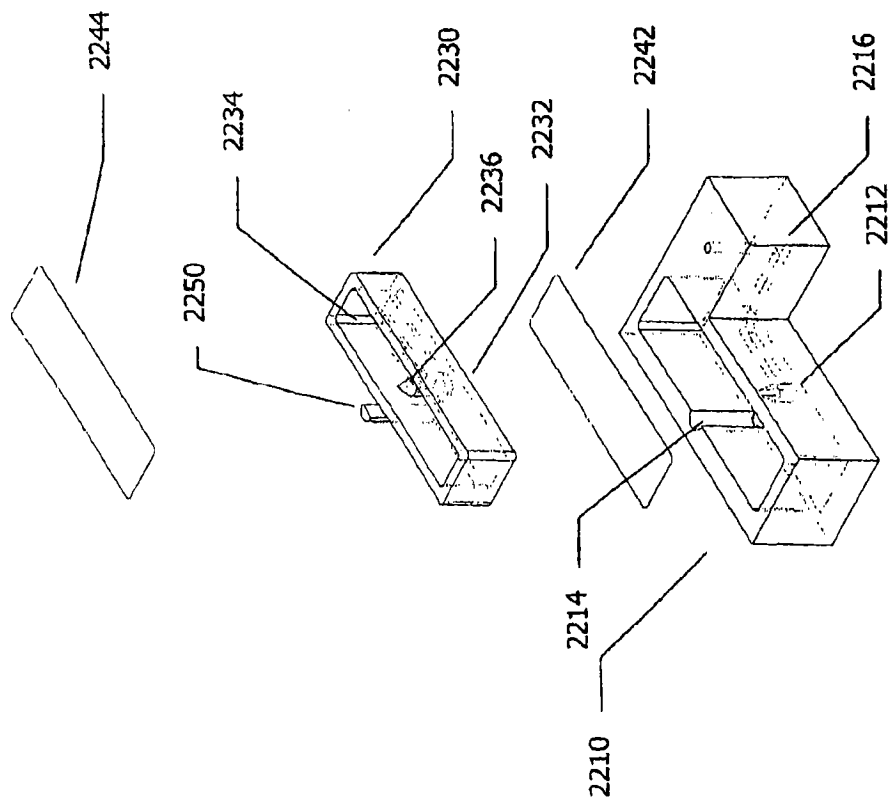


图 22

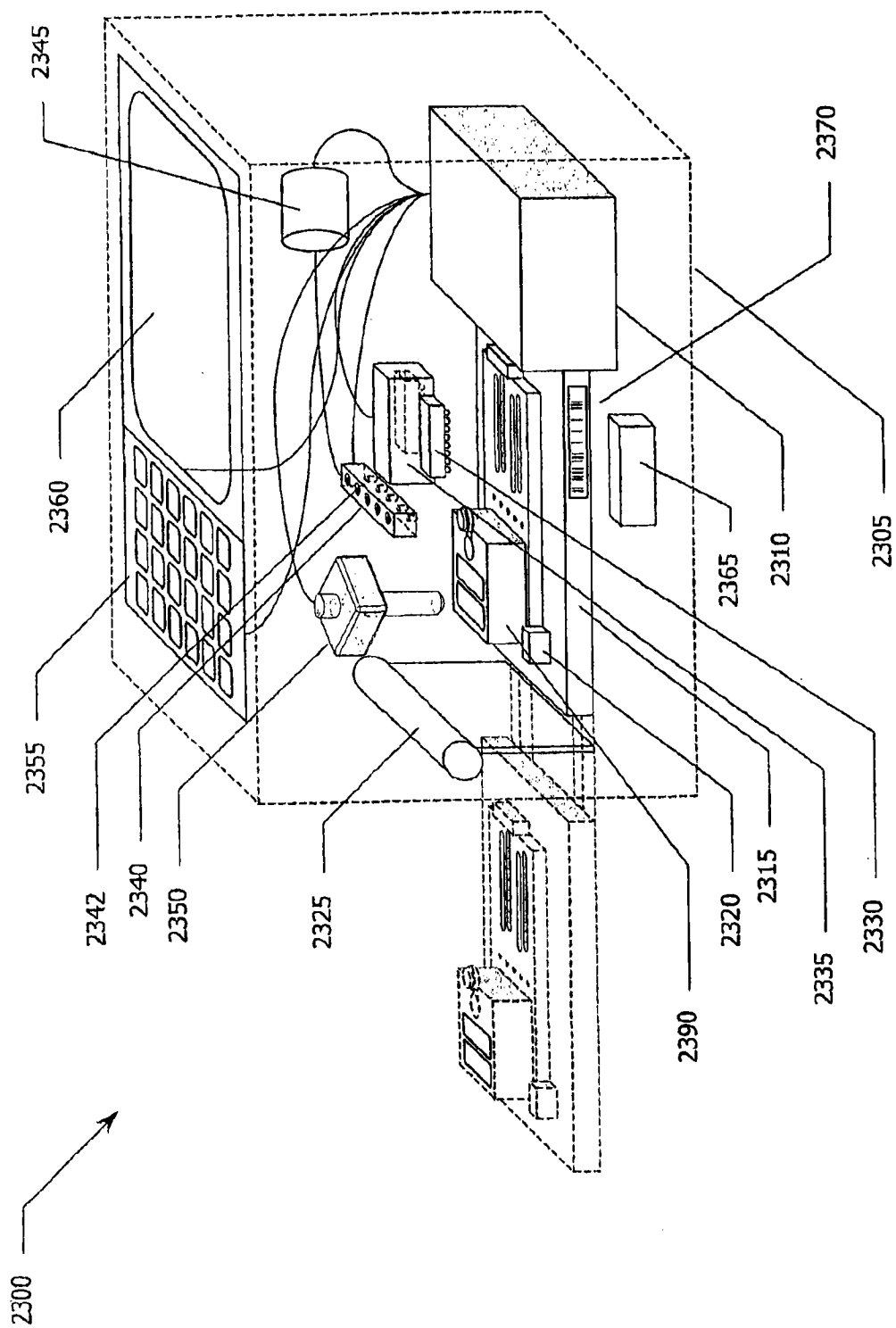


图 23

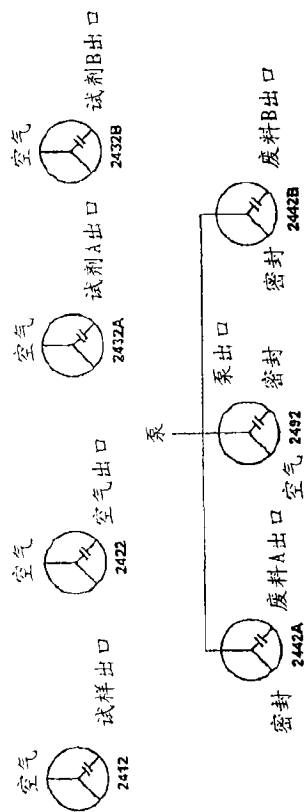


图 24

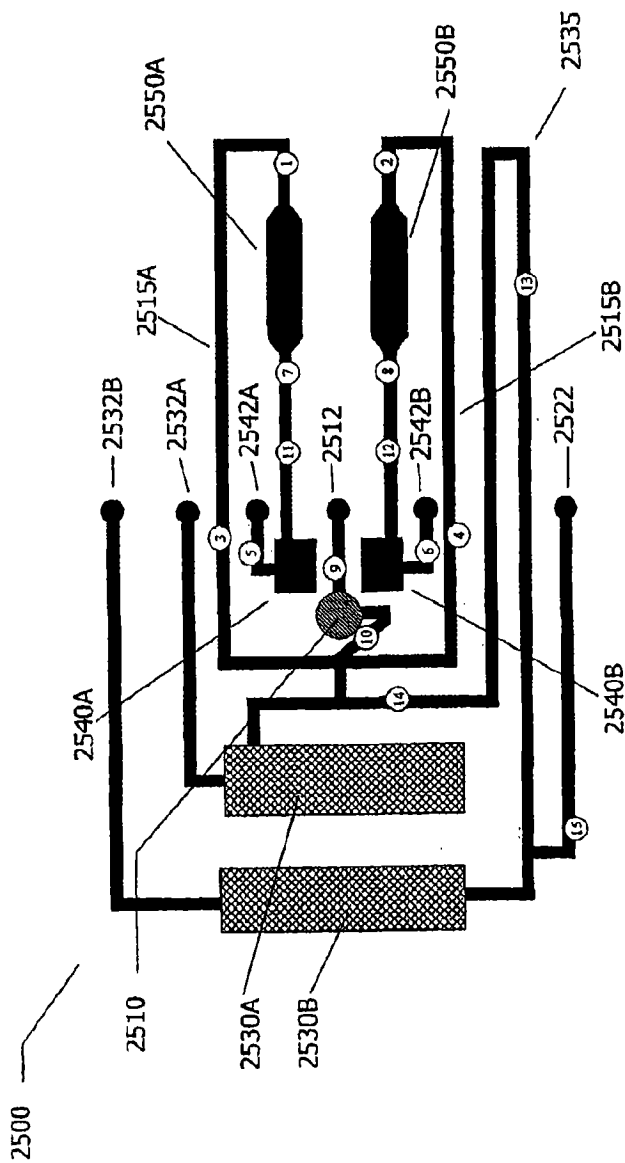


图 25

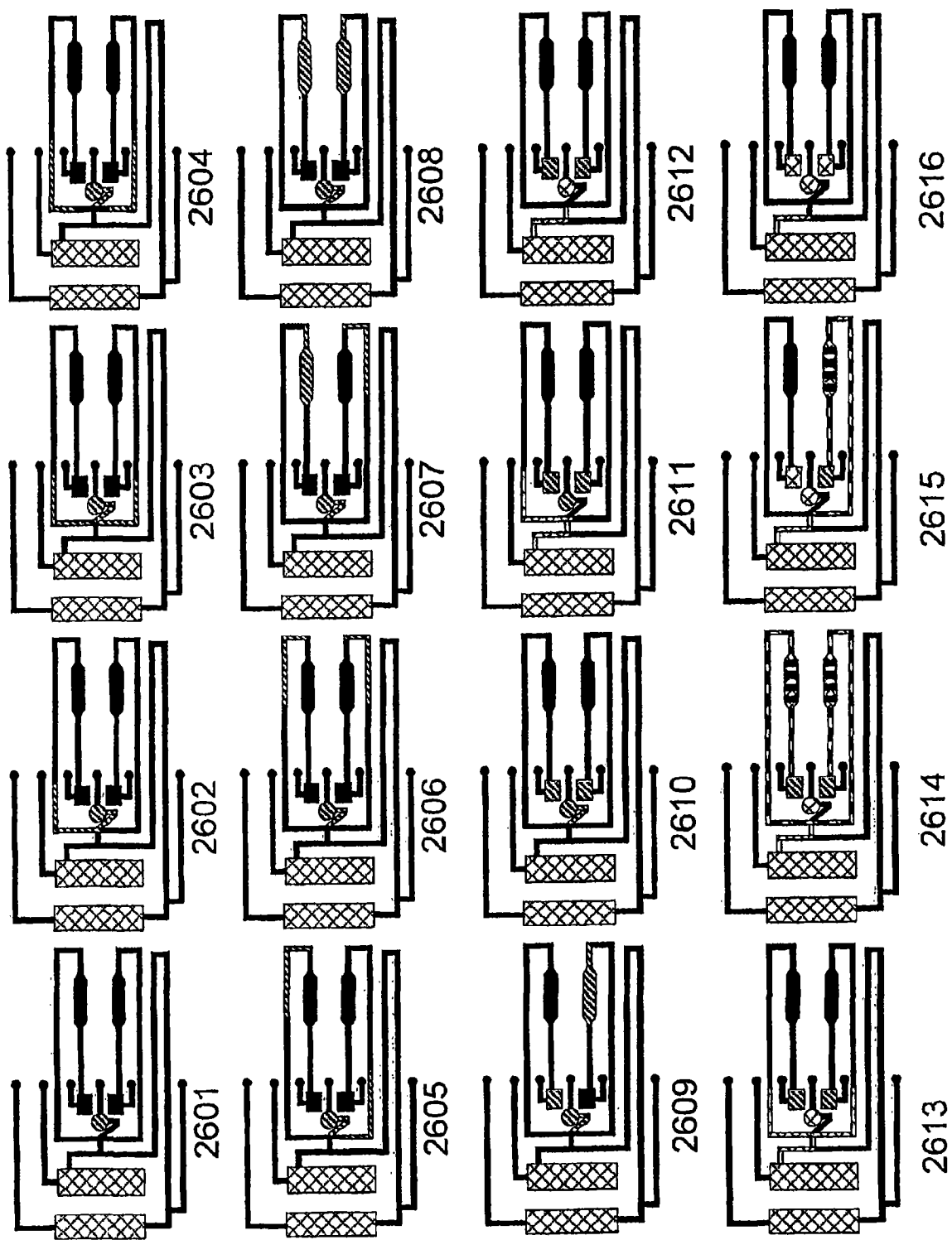


图 26A

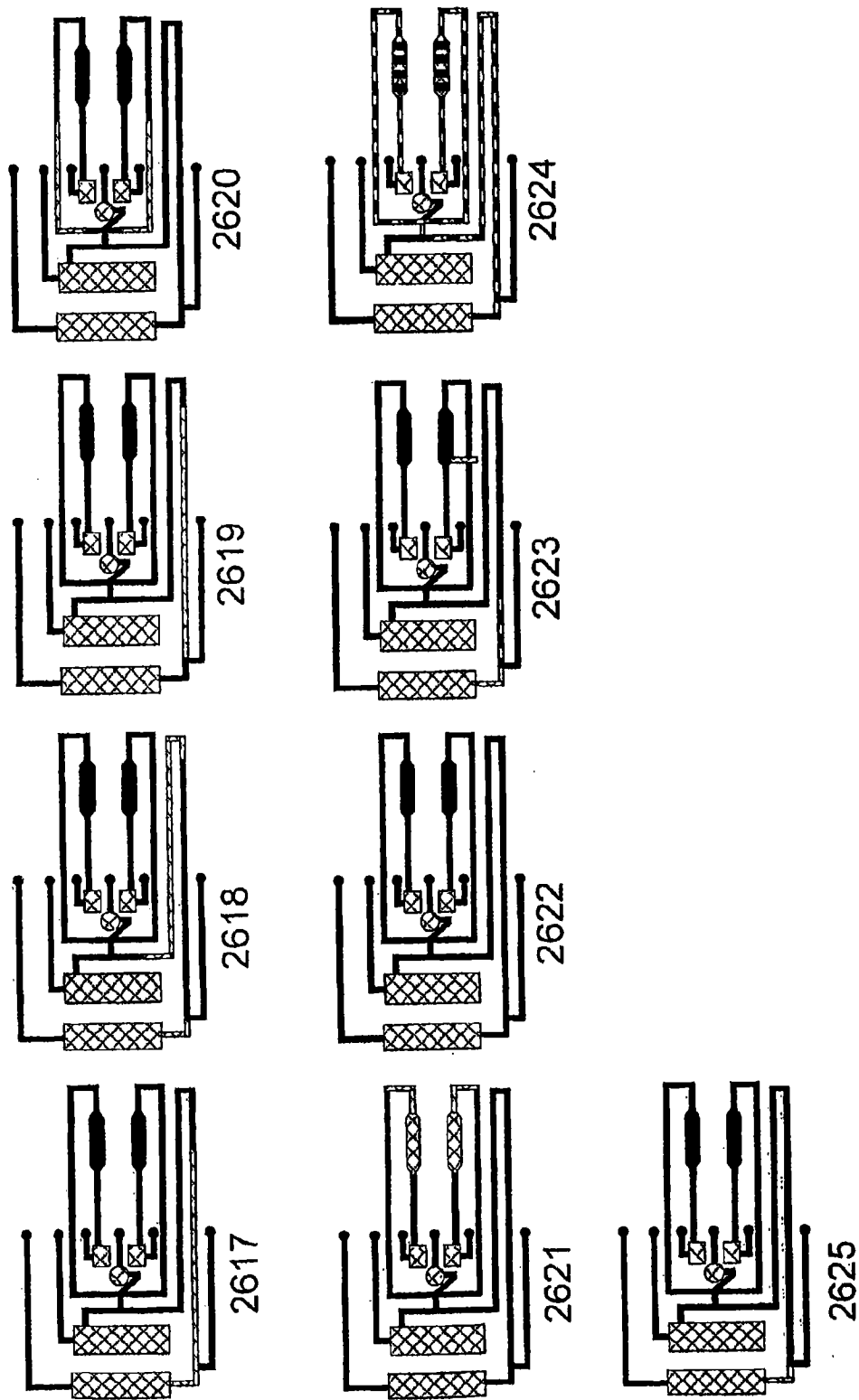


图 26B

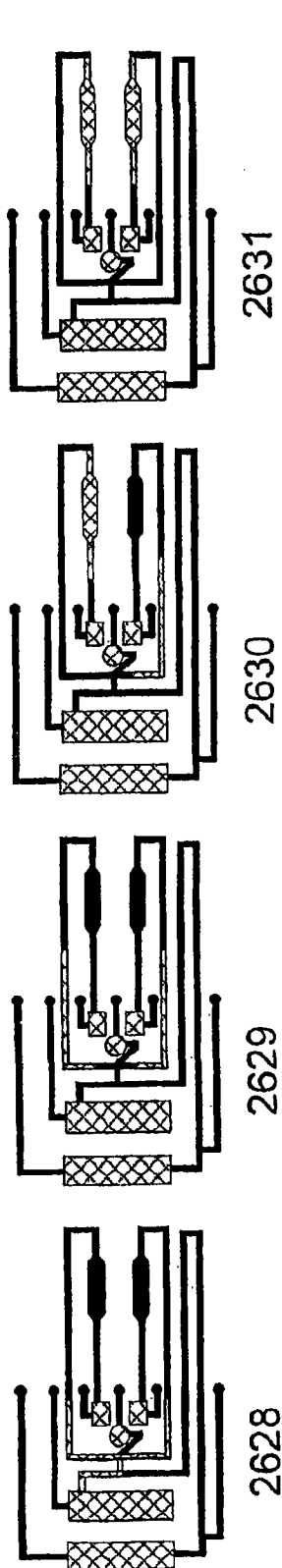


图 26C

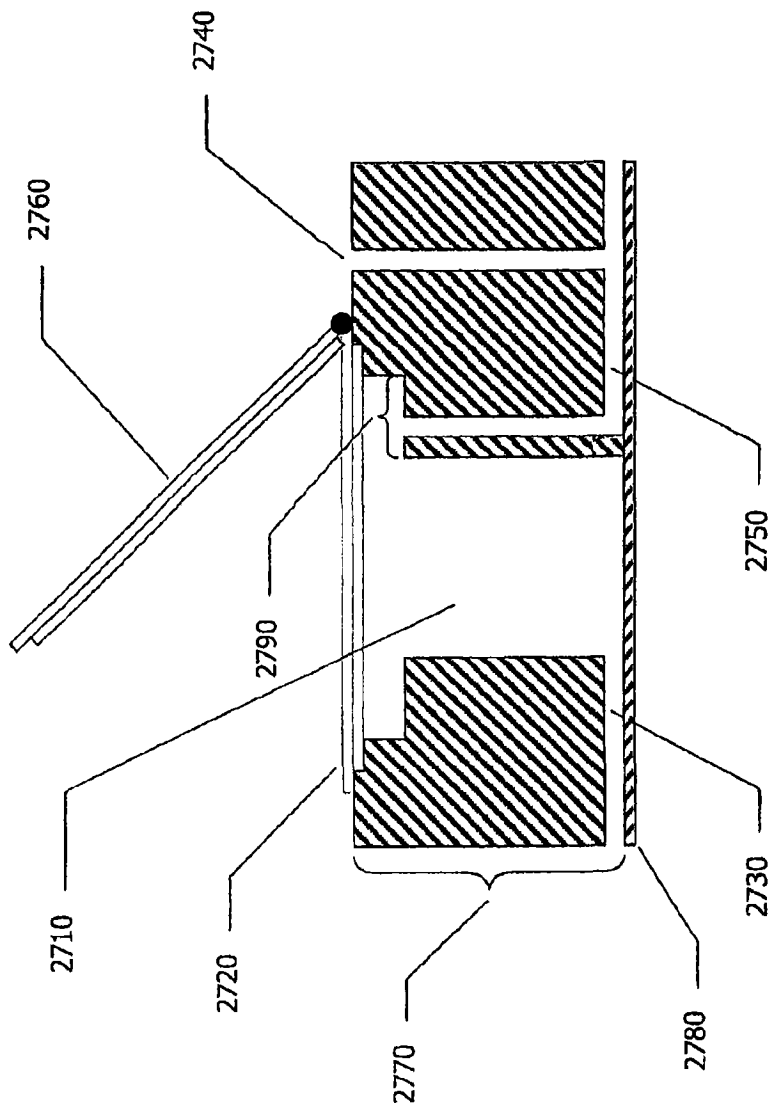


图 27

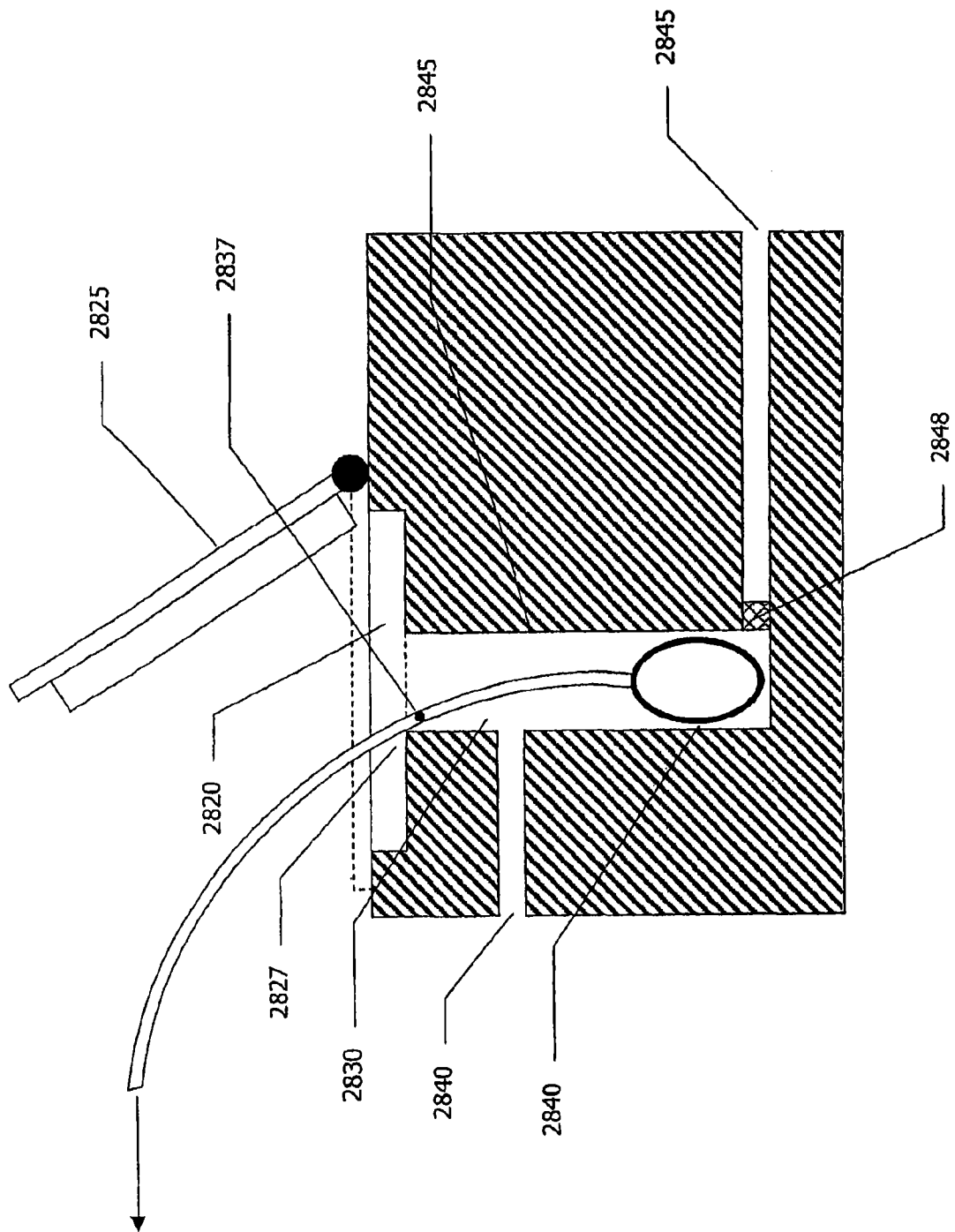


图 28

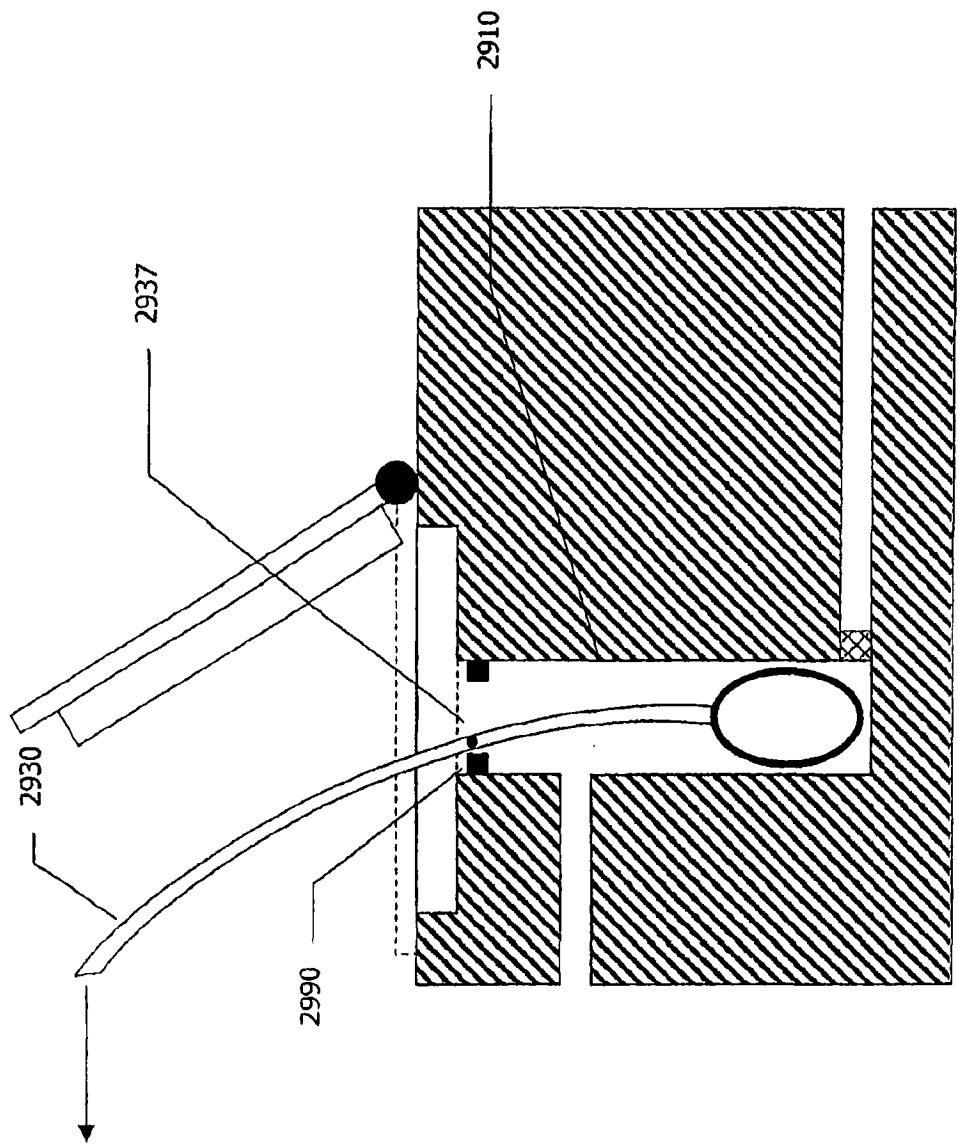


图 29

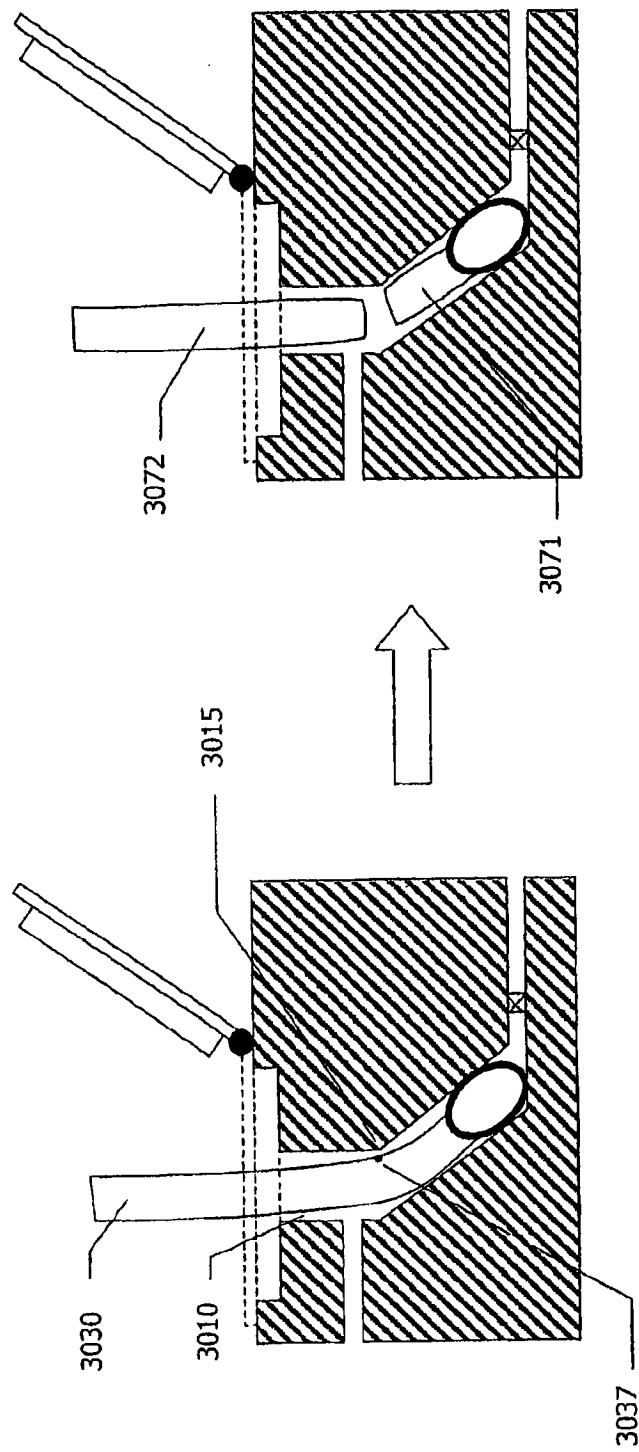


图 30

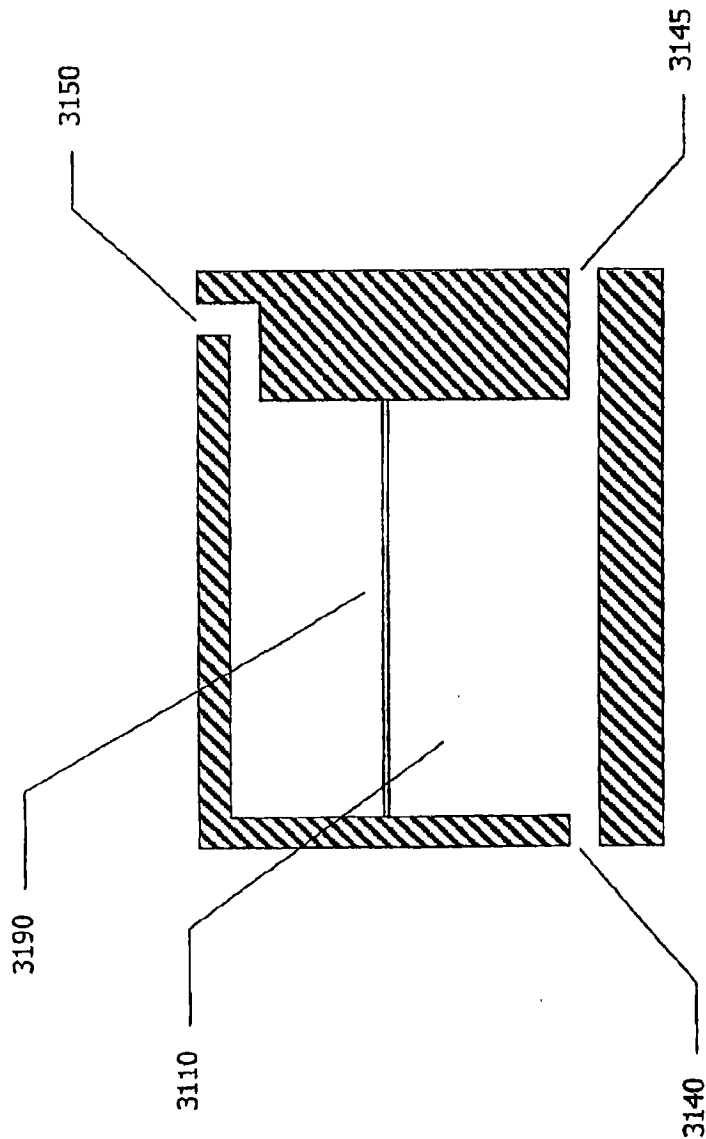


图 31

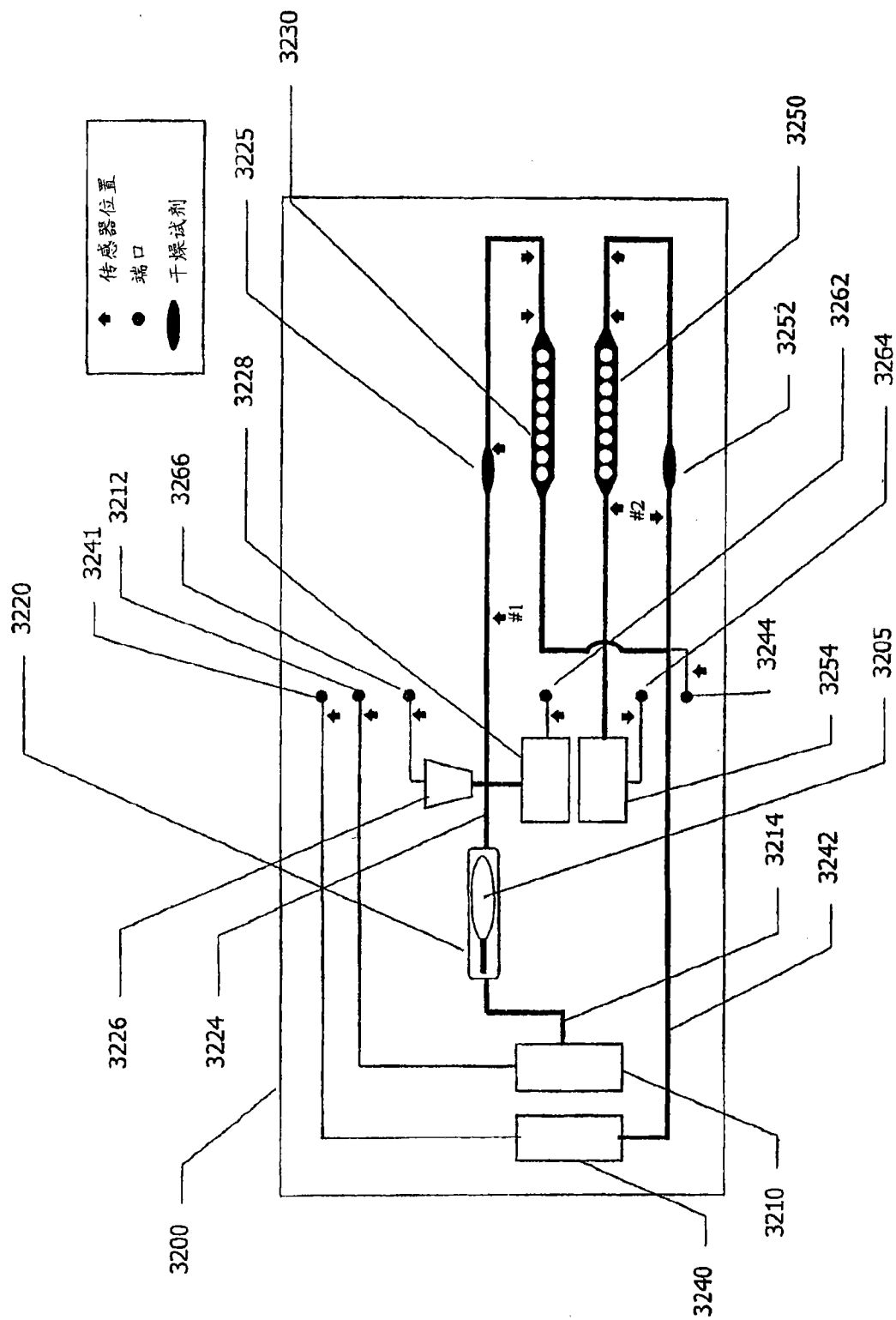


图 32

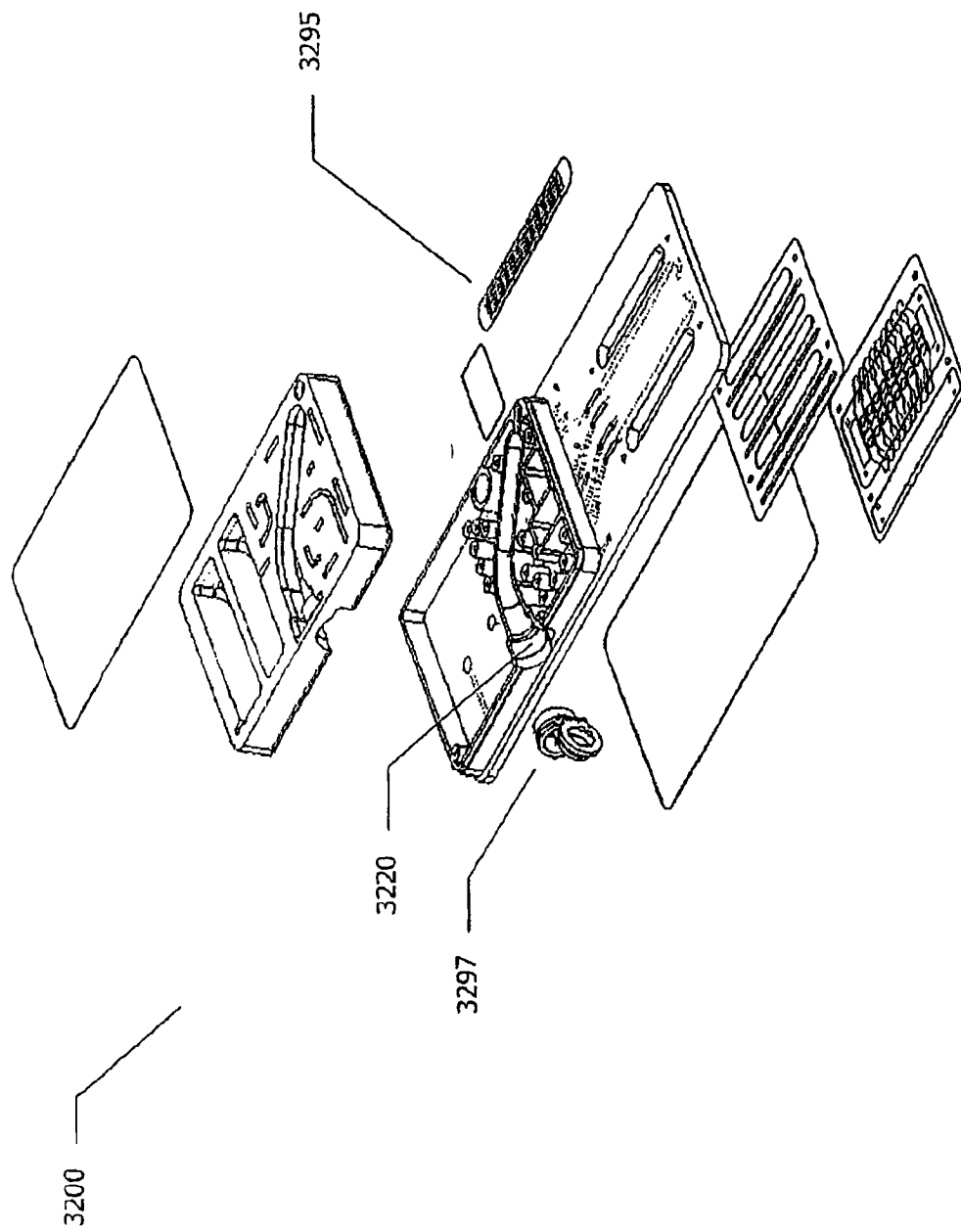


图 33

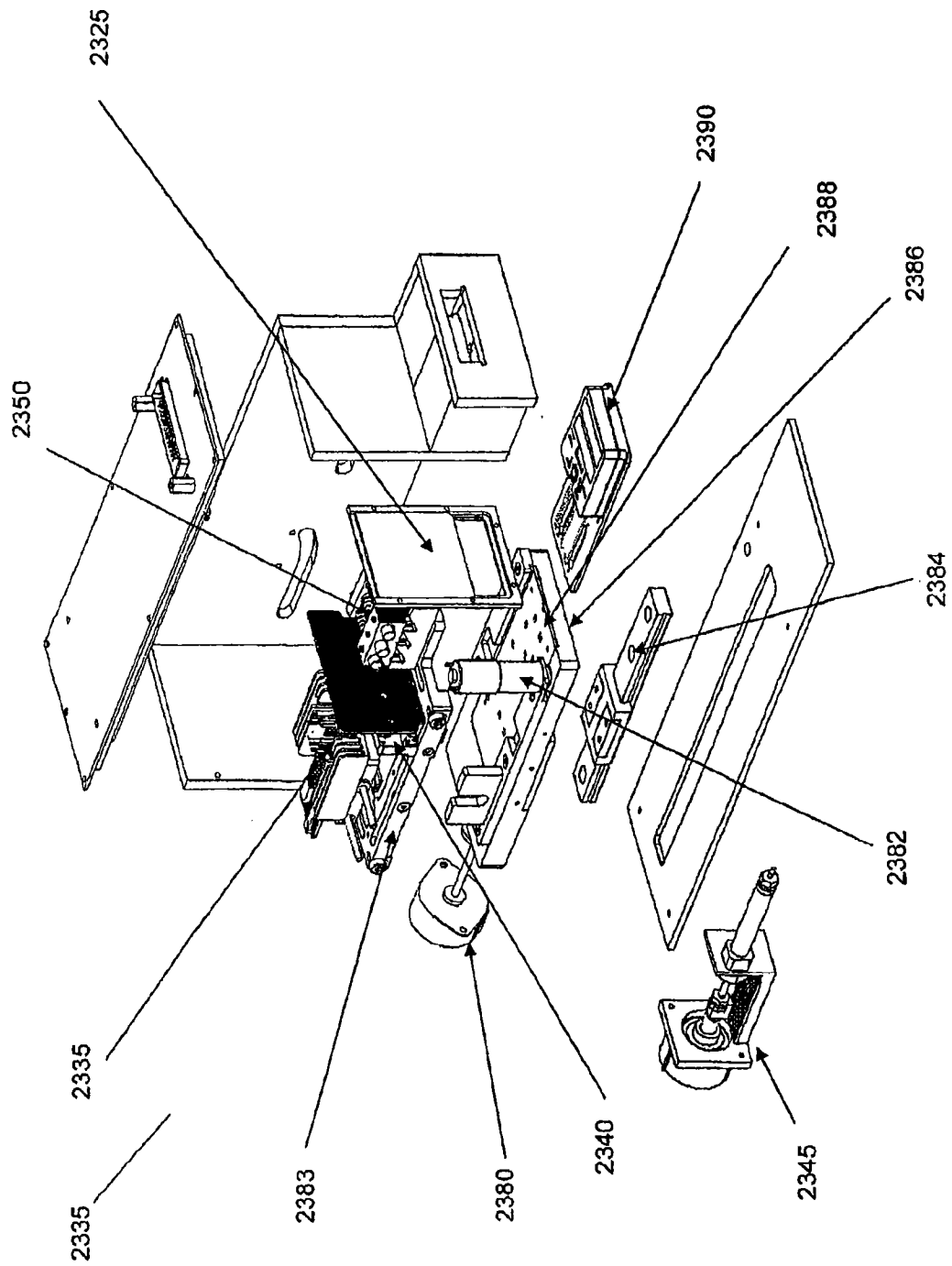


图 34